

用麦秸培养木霉生产蛋白质饲料方法的试验

刘金旭 陈淑筠 胡彩钦 黄俊纯

(青海省畜牧兽医科学研究所, 西宁)

植物纤维素是植物细胞壁的主要成分, 是地球上最丰富的有机物质, 各种农副产品——秸秆、秕壳、枝叶中都含有大量的纤维素。由于大量纤维素的存在不仅降低饲料的饲用价值, 而且也降低了粮食中其他营养物质的利用率。这就限制了在农村中大量存在的纤维素含量高的农副产品的利用。如何将这类饲料化粗为精提高其营养价值, 是畜牧业生产上亟待解决的重

要问题之一。

自然界的许多微生物能有效地利用纤维素进行生长繁殖, 我们可以利用这种特性将纤维素转变为可供家畜利用的微生物蛋白质饲料。国外采用液体深层培养的方法 (Callihin 1971)^[1]利用纤维素生产微生物细胞蛋白, 液体深层培养虽然效率较高, 产品较纯净, 适于工业化生产, 但投资大、成本高, 不适合我国目前广

大农村的实际情况。我国劳动人民在生产实践中创造的固体发酵是一种投资小、成本低、简单易行的方法，广泛应用于食品和酿造业，适合我国广大农村的实际状况，也是广大社员群众所熟悉的一种生产方法。

余永年等同志^[1]曾发表过用固体培养方法培养分解纤维素的霉菌(康氏木霉 *Trichoderma Konigii*)生产菌体蛋白质补充饲料的研究。Seiko Matsunaka^[2]也发表过利用聚生耙齿菌(*Irpex consorus*)及其他微生物混合固体培养生产菌体蛋白质饲料的研究。本实验的目的是探讨用麦秸为原料，固体方法培养木霉，提高其中真蛋白质含量的途径。

一、实验方法

1. 菌种 实验用菌种主要是康氏木霉 3.2064 (由中国科学院微生物研究所供给)。该菌生理特性已由余永年等同志(1963)^[2]进行过研究。菌种保存于马铃薯琼脂培养基上。

2. 固体培养方法 用分析天平称取约 2 克麦秸于 7—8 厘米直径的平皿中，按 1:3 的比例加入无机盐溶液，拌匀，1 公斤/厘米²灭菌 30 分钟，接种后置于 30℃ 中培养 7 天，本文报道的均为培养 7 天的结果。

3. 无机盐液配方 硝酸铵 10.0 克，硫酸镁 2.5 克，

磷酸二氢钾 5.0 克，硫酸铁痕迹，蒸馏水 1 升。

4. 化学分析方法 培养完成后，用全份样品进行分析。分析数字均为两次重复测定的结果。粗纤维按 1958 年全国饲料营养价值评定方法座谈会推荐的方法^[4]，用两层定量滤纸(慢速)过滤，再按半微量凯氏法定氮，乘以常数 6.25，即为真蛋白质的含量。

5. 麦秸用氢氧化钠预处理的方法 麦秸粉(筛孔 1 毫米)加入 8 倍 3% 氢氧化钠溶液，搅拌均匀，置 30℃ 中 24 小时，加 1:1 盐酸中和至 pH 7，用布氏漏斗过滤，加自来水冲洗 5—6 次。置通风处晾干备用。

6. 麦秸用石灰预处理的方法 为了减少其他因素的影响，本实验用化学纯的氧化钙为试剂。加入氧化钙的量是按麦秸粉重量的 1%，3%，5%。每一种浓度的加水量按麦秸的 2 倍和 7 倍两种，分别拌匀浸泡，其他步骤同氢氧化钠预处理。

二、结果和讨论

(一)不同真菌在固体培养条件下对麦秸粗纤维的分解效率

实验用分解纤维素的真菌共 10 株，包括木霉(*Trichoderma* sp.)、青霉(*Penicillium* sp.)。测定结果列于表 1。

表 1 不同真菌对未处理麦秸粗纤维的分解率

	绿 色 木 霉								康氏木霉	青 霉
	3.1096	3.2928	纤维 37	9-161	4-49	3.2192	糖研 37	3.2941	3.2064	3.2877
培养前粗纤维(毫克)	978.4	910.9	1037.0	921.7	886.2	895.3	592.9	777.0	1293.0	921.9
培养后粗纤维(毫克)	929.4	727.4	947.0	807.1	821.5	804.5	571.7	666.0	1041.0	797.3
分解率(%)	5.0	20.1	8.6	12.4	7.3	10.1	3.5	14.2	19.4	13.5

上述真菌对麦秸粗纤维的分解率最高的为 20%。这些真菌是在各自的特定条件下被筛选出来的，本实验的条件不一定适合它们的要求，表 1 中所列粗纤维分解率不一定代表它们在最适条件下对粗纤维的分解能力。我们从这些菌株中选择了绿色木霉 3.2928 (*T. viride*)、康氏木霉 3.2064 和青霉 3.2877 进行碱处理麦秸的粗纤维分解实验。

(二)碱的预处理对麦秸粗纤维分解率的影响

1. 氢氧化钠处理麦秸粗纤维的分解率 一般认为氢氧化钠处理后能提高纤维素的敏感性，促进纤维酶对纤维素的分解。但在不同条件下其效果也不完全一致，Rogers (1972)^[1]报道氢氧化钠处理并没有提高某些真菌对纤维素的分解率。我们观察到培养基对氢氧化钠处理效果有很大影响，如果处理后麦秸只加无机盐培养，粗纤维的分解率并不提高；但是，加无机盐再加麦麸则粗纤维的分解率就有较大的提高(表 2)。麦

麸的作用是有条件的，当把它加到未处理麦秸中，对粗纤维的分解率没有明显的影响，而加到氢氧化钠处理的麦秸中就提高了分解率。这可能是麦麸中含有某些因素，在敏感性高的纤维素中它能发挥作用。这些因素可能是某些营养物质。

不同微生物对氢氧化钠处理加麦麸的反应也不一样，康氏木霉 3.2064 的效果最好，分解率达到 80%。以下各实验均用该菌进行。

2. 石灰处理麦秸粗纤维的分解率 氢氧化钠预处理虽有好的效果，但农村不易得到，因此进一步用农村较易得到的石灰进行预处理试验，试验结果见表 3。氧化钙对提高麦秸粗纤维的分解率也有效果，5% 氧化钙处理麦秸分解率达到 60% 左右。实验也说明浸泡的水量对氧化钙的效果有一定影响，7 倍水浸泡比 2 倍水浸泡的效果好，在三种浓度组合中都存在这种倾向。

表 2 氢氧化钠预处理和麦麸对麦秸粗纤维分解率的影响

	绿色木霉 3.2928			康氏木霉 3.2064			青 霉 3.2877		
	培养前粗纤维(毫克)	培养后粗纤维(毫克)	分解率(%)	培养前粗纤维(毫克)	培养后粗纤维(毫克)	分解率(%)	培养前粗纤维(毫克)	培养后粗纤维(毫克)	分解率(%)
未处理	1293.0	996.0	22.9	1293.0	1041.0	19.4	1293.0	1053.0	18.5
碱处理	1869.0	1581.0	15.4	1869.0	1497.0	19.9	1869.0	1452.0	22.3
未处理+麦麸*	1167.0	933.0	20.0	1167.0	969.0	16.9	1167.0	909.0	22.1
碱处理+麦麸*	1719.2	1065.1	38.0	1719.2	332.5	80.6	1719.2	508.6	70.4

* 麦秸:麦麸 = 9:1。

表 3 氯化钙对麦秸粗纤维分解率的影响*

CaO %	1%		3%		5%	
水的倍数	2	7	2	7	2	7
培养前粗纤维(毫克)	1334.7	1334.4	1342.2	1381.8	1390.2	1438.8
培养后粗纤维(毫克)	1051.5	1031.1	937.8	793.2	589.2	558.6
分解率(%)	21.2	22.7	30.1	42.5	57.6	61.1

* 麦秸粉:麦麸 = 9:1。

(三)培养物中真蛋白质含量

1.不同原料对培养物真蛋白质积累的影响 实验比较了麦麸、玉米粉、菜子饼等农村常见的原料掺入经氢氧化钠处理的麦秸后对培养物真蛋白质积累的影响,结果见表 4。各种补充原料相比较仍以麦麸积累的真蛋白质量较高。

表 4 补充原料对康氏木霉真蛋白质积累的影响

补充原料	真蛋白质(毫克)		
	培养前	培养后	增 加
玉米粉	44.0	124.2	80.2
菜子饼(机榨)	87.8	162.8	75.0
菜子饼(土法榨)	69.0	147.0	78.0
麦麸	53.4	178.2	124.8

麦秸:补充原料 = 9:1。

2.无机氮对真蛋白质积累的影响 培养基中的无机盐在一般成份不变的条件下,试验比较了硝酸铵含量为 1%、1.25%、1.5%、1.75% 对真蛋白质积累的影响。实验结果见表 5。其中以 1.25% 硝酸铵积累

表 5 无机氮对康氏木霉真蛋白质积累的影响

硝酸铵含量(%)	真蛋白质(毫克)		
	培养前	培养后	增 加
1.00	53.4	168.8	115.4
1.25	53.4	175.4	122.0
1.50	53.4	130.0	76.6
1.75	53.4	119.8	66.4

的真蛋白质较高。而高浓度硝酸铵对菌有抑制作用。

3.流加无机氮对真蛋白质积累的影响 由于高浓度无机氮对菌有抑制作用,所以在培养过程中当微生物消耗了一部分无机氮以后,不断补充无机氮,以期达到既无抑菌作用又积累真蛋白质的目的。实验结果以培养 72 小时后流加营养液(硝酸铵 25 克,硫酸镁 5 克,磷酸氢一钾 10 克,蒸馏水 1 升)效果较好(表 6)。

表 6 流加营养液对康氏木霉真蛋白质积累的影响

处 理	真蛋白质(毫克)		
	培养前	培养后	增 加
不流加	53.4	176.4	123.0
培养 48 小时流加 2 毫升	53.4	175.6	122.2
培养 48 小时流加 1 毫升 60 小时再加 1 毫升	53.4	155.0	101.6
培养 72 小时流加 2 毫升	53.4	191.2	137.8

综合以上各次实验结果,进行了小量固体培养实验。方法是:称取经 3% 氢氧化钠预处理的麦秸粉 1.8000 克,麦麸 0.2000 克于一直径 7—8 厘米平皿中,加含有 1.25% 硝酸铵的无机盐溶液(其他成分不变)6 毫升,拌匀,1 公斤/厘米²灭菌 30 分钟,接种康氏木霉 3.2064,置于 30℃ 中培养,在培养后 72 小时流加营养液 2 毫升,拌匀,继续培养至第 7 天,进行化学分析,结果见表 7。培养物中真蛋白质有显著增加,与原料中真蛋白质比较增加了 29.3%。粗纤维被大量分解利用,与原料比较减少了 77.9%。培养过程中干物质大量减少,在第 7 天剩余的干物质为原料干物质的 55.6%,失去 44.4%。干物质的减少使蛋白质和粗纤

表 7 小量样品培养后成分的变化

成 分	培养前 (毫克)	培养后 (毫克)	增 减		培养后 占干重 (%)
			重量 (毫克)	百分率 (%)	
真蛋白质	53.4	210.1	+156.7	+293	18.9
粗 纤 维	1119.8	247.5	-872.3	- 77.9	22.3
干 物 质	2000.0	1112.2	-887.8	- 44.4	

维成份相对含量增高,培养物干物质中真蛋白质含量达到18.9%,粗纤维含量仍有22.3%。Sieko Matsuoka (1971)^[1]报道用甘蔗渣固体培养耙齿菌生产饲料的方法,制成的饲料干物质中含粗蛋白质15.1%,粗纤维16.3%。同一作者(1973)报道^[4]的用另一方法制成的饲料含蛋白质5.9%,粗纤维31.2%。

(四)粗纤维的利用效率分析

1. 被利用的粗纤维转化为真蛋白质的效率 按表7数字计算,被利用的粗纤维转化为真蛋白质的效率是17.9% ($156.7/872.3 \times 100$)。Callihan 等 1971^[1]报道,在一种甘蔗渣液体深层发酵生产单细胞蛋白的装置中,被消耗的碳水化合物转化为真蛋白质的效率是23%。

2. 被利用的粗纤维转化为菌体的效率 因为在固体培养中菌丝和未分解的原料无法分开,所以不能直接测定菌体重,我们仅根据培养物中真蛋白质含量和菌体蛋白质含量进行推算。培养后测定的真蛋白质包括菌体蛋白质和未分解原料的蛋白质,根据实验原料至少被分解50%,故列出公式为:

$$\left(\frac{\text{培养物中蛋白质} - \text{原料蛋白质}}{2} \right) \times$$

$$\times \frac{100}{\text{菌体蛋白质含量}} = \text{菌体重}$$

菌体蛋白质按27%计算,则每皿菌体重为:

$$(210.1 - 53.4/2) \times 100/27 = 679.3 \text{ 毫克}$$

粗纤维转化为菌体的效率为:

$$\frac{679.3}{872.3} \times 100 = 77.9\%$$

Rogers (1972)^[5]报道烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*) 从纤维素转化为菌丝的效率是50—68%,前述 Callihan^[1]计算在100毫升培养液中消耗26毫克碳水化合物产生13毫克菌体,效率为50%。

用以上计算的菌体重计算培养物干物质中菌体占的比例是61% ($679.3/1112.2 \times 100$)。

本实验的数据,是在实验室条件下,从小量样品中得到的。与当前农村生产实际还有很大距离,如原料的灭菌,原料预处理方法,固体深层发酵等许多问题,尤其是蛋白质的营养价值以及可能产生的毒素问题都有待进一步研究解决。

参 考 文 献

- [1] Callihan, C. D. and Dunlap, C. E.: "Construction of a Chemical-Microbial pilot plant for production of single-cell protein from cellulosic wastes". For publ. by U. S. Environ. Prot. Age. 1971.
- [2] 余永年等: 植物学报, 11(2): 191. 1963.
- [3] Seiko Masuoka: U. S. Patent 3, 597, 218. 1971.
- [4] 暂行饲料分析法(修正草案)。中国农业科学院畜牧研究所. 1957.
- [5] Rogers, C. T. et al. Environ. Sci. Tech. 6(8): 715. 1972.
- [6] Seiko Masuoka: Brit. Patent 1317003. 1973.