

农作物秸秆发酵剂的研究

张博润 刘玉方 陈玉梅

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 用液体、固体不同培养方式, 对异常汉逊酵母(*Hansenula anomala*) AS2. 300、白地霉(*Geotrichum candidum*) AS2. 361、康宁木霉(*Trichoderma koningii*) TK-2、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) LP-5等菌进行分别培养, 然后按一定比例配成农作物秸秆发酵剂。并进行了对玉米秸秆发酵试验: 在室温条件下发酵7天, 添加5%发酵剂, 发酵产物的粗蛋白含量提高一倍左右; 添加20%发酵剂, 发酵产物的粗蛋白含量提高近三倍, 并具有酒香味和弱酸味, 适口性好。

关键词 异常汉逊酵母, 白地霉, 康宁木霉, 植物乳杆菌, 农作物秸秆发酵剂

我国畜牧业结构目前仍属“耗料型”或“精料型”, 猪、禽、食草牲畜所占比例分别为85%、9%和6%。若按这种畜牧业结构发展, 饲料用粮将会越来越大, 必将出现更严重的人畜争粮局面。因此, 必须大力加速发展食草牲畜, 逐步达到调整畜牧业结构, 实现“精料型”畜牧业结构向“节粮型”畜牧业结构转化, 才能缓解人畜争粮的根本矛盾。我国是一个农业大国, 据粗略统计, 每年约产农作物秸秆8亿吨, 但目前用作饲料的仅占15%左右, 绝大部分农作物秸秆仍直接还田或作燃料用, 既造成资源浪费, 又污染环境。因此, 开展利用微生物发酵农作物秸秆生产蛋白饲料的开发研究, 不仅可解决蛋白饲料的严重不足, 缓解人畜争粮的矛盾, 促进畜牧业发展; 还可促使我国的畜牧业结构从“精料型”向“节粮型”发展, 既具有重要的理论指导意义和社会效益, 又具有巨大的经济效益^[1~4]。为了既适用于饲料厂集中使用, 又适用于农村分散的农户使用, 我们进行了农作物秸秆发酵剂的研究。

1 材料和方法

1.1 菌种

康宁木霉(*Trichoderma koningii*) TK-2, 保存于PDA斜面上; 植物乳杆菌

(*Lactobacillus plantarum*) LP-5, 保存于乳酸菌培养基上; 异常汉逊酵母(*Hansenula anomala*) AS2. 300, 保存于麦芽汁斜面或YEPD斜面上; 白地霉(*Geotrichum candidum*) AS2. 361, 保存于麦芽汁斜面或YEPD斜面上。以上菌株均系本室保藏菌种。

1.2 培养基

1.2.1 麦芽汁固体培养基, 麦芽汁液体培养基^[5]。

1.2.2 YEPD培养基^[5]。

1.2.3 玉米糖化液培养基: 含糖量12%。

1.2.4 固体培养基(%): 豆饼粉28, 麦芽根粉20, 麸皮20, 白酒糟30, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2。原料: 水=1:0.7。自然pH。以上培养基均为 $0.55 \times 10^5 \text{Pa}$ 灭菌30min。

1.3 分析方法

1.3.1 水分测定, 粗纤维测定, 粗脂肪测定, 均见文献^[6]。

1.3.2 粗蛋白含量测定^[7]。

1.3.3 发酵力测定, 采用杜氏管法测定。

1.3.4 细胞数测定: 采用血球计数法和平皿活菌计数法。

1.3.5 纤维素酶、半纤维素酶、淀粉酶等活性测定^[8]。

2 结果和讨论

2.1 农作物秸秆发酵剂的制备

农作物秸秆发酵剂的工艺流程如下:

斜面菌种 活化 液体菌种 (5ml 麦芽汁 / 大试管, 30℃, 220r / min 摇床培养 16~18h) 10%接种量 一级液体培养 (30ml 麦芽汁 / 250ml 三角瓶, 30℃, 220r / min 摇床培养 18~20h) 10%接种量 二级液体培养 (200ml 玉米糖化液 / 500ml 三角瓶, 30℃, 220r / min 摇床培养 18~20h) 10%接种量 大三角瓶液体培养 (1500ml 玉米糖化液 / 3000ml 三角瓶, 30℃, 220r / min

摇床培养 18~20h) 40%接种量 固体

培养基: 接种后混合均匀, 装曲盘 30~35℃, 静止培养 35~40h. 45℃ 烘干或凉干 粉碎 按比例将 4 种菌的固体培养物配合,

适当添加 NaCl, 尿素等混合均匀即为农作物秸秆发酵剂。

2.2 农作物秸秆发酵剂各组分的分析

按材料和方法中所述, 对 4 种菌的发酵产物进行了分析, 结果见表 1。

2.3 农作物秸秆发酵剂的生理生化特性分析

将 4 种菌分 3 批次固体发酵后烘干的产物按 1:1:1:1 比例配合, 添加 2%NaCl, 2% 尿素混合均匀, 即为农作物秸秆发酵剂 (I、II、III)。其生理、生化特性分析见表 2。

表 1 四种菌的发酵产物的分析结果

菌 种	水 分 (%)	粗蛋白 (%)	细胞数($\times 10^8$ / g)		发酵力* (2d)	纤维素酶 (u / g)	半纤维素酶 (u / g)	淀粉酶 (u / g)
			血球计数	平皿计数				
TK-2	8.9	38.7	38.1	36.5	—	2100	1600	1700
LP-5	9.2	39.9	39.3	39.5	+++	1750	1700	1600
AS2. 300	8.7	36.2	58.0	53.0	+++	0	0	0
AS2. 361	8.8	37.5	48.2	47.6	—	0	450	1450

*: “+++”强, “++”较强, “+”弱, “—”无。下同。

表 2 农作物秸秆发酵剂的生理、生化特性

编 号	水 分 (%)	粗蛋白 (%)	细胞数($\times 10^8$ / g)		发酵力 (2d)	纤维素酶 (u / g)	半纤维素酶 (u / g)	淀粉酶 (u / g)
			血球计数	平皿计数				
I	9.0	40.6	46.7	46.3	+++	950	840	1185
II	9.1	40.5	46.9	46.5	+++	950	865	1180
III	8.9	40.9	47.2	46.7	+++	960	875	1185

表 3 不同接种量发酵玉米秸秆的产物分析

接种量 (%)	水 分 (%)	干物质 (%)	粗蛋白 (%)	粗纤维 (%)	粗脂肪 (%)	灰 分 (%)	气 味	
							酒香味	酸味
对照	10.5	89.5	4.3	43.6	1.2	10.7	—	—
5	10.9	89.1	8.7	36.8	3.2	9.8	+	—
10	10.7	89.3	10.6	34.1	3.9	9.8	+++	+
15	10.5	89.5	12.4	32.6	4.3	9.9	+++	+
20	10.8	89.2	14.0	30.2	4.6	9.8	+++	+

(下转第 135 页)

(上接第 137 页)

2.4 玉米秸秆发酵试验

将玉米秸秆粉碎成粉状物(含水量约为 10%左右),原料:水=1:0.7。分别按 5%、10%、15%、20%接种量将农作物秸秆发酵剂Ⅲ溶于含有 1%葡萄糖的自来水中,室温条件活化 1h 后,与玉米秸秆粉混合。在室温(18~22℃)条件下发酵 7d,烘干后对发酵产物进行分析,结果见表 3(3 次实验平均值)。

综上所述,我们依据不同微生物菌种的生理生化特性,选用康宁木霉、异常汉逊酵母、白地霉和植物乳杆菌等 4 株菌,采用液体、固体分别培养,然后按比例混合,适当添加 NaCl、尿素等配制成农作物秸秆发酵剂。并进行了玉米秸秆发酵试验,在室温条件下发酵 7d,当添加 5%微生物秸秆发酵剂时,发酵产物的粗蛋白含量提高近 1 倍,添加 20%微生物秸秆发酵剂时,发酵产物的粗蛋白含量提高近 3 倍,并具有

酒香味和弱酸味,适口性好。以上结果表明,该项研究具有良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 谭友良. 自然资源学报, 1995, 10(1): 73~78.
- [2] 徐坚平, 刘均松, 孔维, 等. 微生物学通报, 1995, 22(4): 222~225.
- [3] 邹霞青. 农业科学信息, 1995, 11(7): 1~2.
- [4] 邢廷铤. 饲料研究, 1995, 9: 2~3.
- [5] 贾盘兴, 蔡金科, 马德钦, 等编著. 微生物遗传学实验技术. 北京: 科学出版社, 1992.
- [6] 张永惠, 陈骅. 造纸工业化学分析, 北京: 轻工业出版社, 1961.
- [7] 北京大学生物系生物化学教研室编. 生物化学实验指导. 北京: 人民教育出版社, 1979.
- [8] 应用微生物展览汇编. 酶制剂的生产和测定方法, 北京: 中国工业出版社, 1971.