

发酵饲料中微生物的调查*

李万年 黄河 谈家林 郝凤吟 史春霖

(中国科学院微生物研究所,北京)

随着发酵饲料的推广应用,不少科技工作者进行过饲养对比试验和化学分析,了解到用各种曲种和发酵方法制成的发酵饲料,饲养效果各有高低,而且原料在发酵前后的主要化学

成份(包括蛋白质、糖、脂肪、纤维素等)的含量没有显著不同。这样就难于正确估价曲种和恰当使用发酵饲料。饲料的好坏只是借用“酸、甜、软、熟、香”的主观感觉来判断,不易订出标

表 1 曲 种 样 品

样品编号	样品来源	曲 种	原 料	作 法	发酵时间	取样部位	注
1	山西昔阳大寨公社龙凤坡大队	前进一号曲种					干粉状
2	人民解放军 181 医院	长效发酵曲种					干球状
3		长效发酵糠					干粉状
4	北京海淀公社安和桥生产队	703曲传代	麦麸:玉米粉 =2:1	热粉浆拌料封入缸	10日		已传代约三个月,每六日一传。
5					6日		
6	山西昔阳大寨大队	大寨曲传代	麦麸:谷糠 =3:7	热水拌料封入缸	4日	上 ⁷ *	已传代约八个月
7					5日		
8					5日		
9					76日		
10					76日	下	已开用 已开用

* 表示从同一缸的不同部位取样品。

准。本工作结合发酵生产情况,试图粗略调查发酵饲料中的主要微生物类群,用以探讨发酵过程中的规律。

样 品

于 1975 年 4—9 月,自全国各省、市、县推

广面较大、坚持较久的生产单位取样。样品包括曲种和发酵饲料两类,对样品的详细描述见表 1, 2。

* 工作于 1975 年 12 月完成,工作中得到各地各单位领导和同志们的大力支持和帮助。

表 2 发 酵 饲 料 样 品

样品编号	样品来源	曲种及用量	原 料	用水量 (料:水)	发酵场所 及容器	封闭否	发酵时间	取样 部位	注
1 2 3 4	北京海淀公社 青龙桥大队安 和桥生产队	703传代曲 1.7:100 约已传 3 个 月, 20 多代。	稻草:玉米面 =100:3	适量*	室内水泥池	开始即封	池 1 日 池 5 日	上 中 下	已开用 已开用
5 6 7 8 9	中国人民解放军 4623部队	中曲曲种 3:100 发酵饲料传代 已传 4 个月, 20 多代。	玉米皮 21.4 %, 玉米 粘 42.9%, 麸皮 14.3%, 稻糠 7.1%, 坏稻子 14.3%	1:1	室内、水泥 池堆。缸内 封。	堆:盖麻袋。 缸:封。	堆15时 缸 2 日 缸 5 日	中 上 中 上 中	
10 11 12 13	河北玉田林东 公社沈官屯大 队	中曲曲种 3:100	高粱粘:玉米 粘=1:1	1:1.1	室内,缸	封	缸 1 日 不知 不知	上 中	大队干部代 取样
14 15 16 17	中国人民解放军 1775部队	无曲盐水发酵 饲料	多种干粗料: 玉米粉 =100:2	1:1.2	室内大木箱 堆放一日后 入缸	堆:盖。 缸:封。	木箱27时 缸1.5日	上 中 上 中	
18 19 20 21 22 23	山西昔阳大寨 大队	大寨曲种传代 曲, 已传 8 个 月, 6—7:100	稻壳,谷糠:麦 麸=100:4—6	1:1	窑洞内,水 泥池及缸	开始即封	1 日 2 日 6 日	上 下 上 下 上 下	已开用
24 25 26 27 28 29	山西忻县高城 公社张村大队	前进一号曲 0.5:100 5:100	稻草粘,高粱 壳 粘秆:玉米面 1:1	偏干 略湿	室内水泥池 及缸	堆一天后装 缸封	缸 1 日 缸 2 日 缸 3 日	上 下 上 下 上 下	小猪料
30 31 32	山西忻县温村 公社大王大队	前进一号曲 10:100	玉米,高粱秆	略湿	室内,缸	堆半日装缸 封	缸 1 日 缸 3 日	上 上 下 下	
33 34 35 36 37 38 39 40	中国人民解放军 181医院	长效曲,老饲 料传代曲10:100 长效曲种 长效曲种 老饲料代曲 培养霉菌 (毛霉或根霉)	水葫芦:统糠 70:30 水葫芦:统糠 70:30 " " 水葫芦:统糠: 碎米 =70:30:5	不用水 不用水 湿	室内,大堆 或小堆 " " 水泥池	堆后封 堆后封 未封 封	1 年 封 4 日 小堆22时 小堆39时 1 日 4 日	上 下 上 下 中 中 上 下	
41 42	中国人民解放军 183医院	703或长效曲	红薯藤:统糠 1:1	不用水	室内大堆	封	约 1 月	上 下	已开用
43 44 45 46	广西玉林县食 品公司中转猪 场	703曲 4 份, 酵母粉 1 份 0.1:100	红薯藤:统糠 1:1	糠量的50%	室内堆	不	堆 1 日 堆 2 日	上 下 上 下	已开用
47	广西容县食品 公司猪场	糖化曲 0.04:100	红薯藤:统糠: 米粉60:30:10	不用水	室内大堆	不	堆 3 日	中	已开用
48 49	广西畜牧研究 所饲养队	703曲 0.1:100	统糠:麸皮:玉 米粉:粘 秆 =1.8:0.6:0.6:1	40%	室内小堆	不	堆 1 日	上	已开用
50 51	杭州四村大队	703曲	麦草粉:鸡粪 1:1	偏干	堆积	不	堆 2 日	上 下	
52 53	嘉兴王店公社 高峰大队一队	无曲盐水发酵	花草	料面以上 有浮水	露天地坑紧 压	不盖	贮长期	上 下	
54	嘉兴王店公社 高峰大队一队	木霉纤维素曲 0.25:100	青菜	料面以上 有浮水	"	不盖	贮长期	上中	

样品编号	样品来源	曲种及用量	原 料	用水量 (料:水)	发酵场所 及容器	封闭否	发酵时间	取样部位	注
55 56	高峰大队	木霉纤维素曲 1:100	元白菜:稻草 粉100:5	料上浮,料 下有水	露天缸压实	有盖	贮长期	上 下偏上]	
57 58 59 60	兰州军区军政 干校猪场	水泡料	小麦秆:玉米 秆:干青草= 5:3:2	三倍水	室内缸及锅	不	0 时 2 日	中 中	
		黑粉菌曲		1:1	室内缸	封	0 时 3 日	中 中	
61 62	甘肃农大猪场 甘肃农大种猪 场	自然发酵	酒糟:青草:玉 米粉8:3:2	约1:2	室内堆	不	1 日	中	
			6—8:2:2—3	1:0.6	室内桶	不	1 日	中	
63 64 65 66	陕西临潼县食 品公司猪场	酵母粉 0.5:100	干青草	1:1.2	室内大池, 池下木板可 通气	上封	1 日 3 日	上 下 上 下]	
67 68 69	宁夏农科所	木霉菌 10:100	玉米秆:苜蓿 粉8:2	7 倍水	室内缸	0 时 1 日 2 日	中 中 中		酶解

* 适量即料拌水后,以手紧握出水,放开不散为准。

** 括号示同一缸样品或同一堆样品。

方 法

一、微生物的分离

采用改良马丁、牛肉汁、麦芽汁和 MRS 四种培养基,制成平板。取样品 1 克倒入装 100 毫升无菌水的三角瓶中,振荡 30 分钟后,稀释为 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 接入各皿 0.1 毫升,使再稀释为 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 三个稀释度(有的还需稀释成 10^{-7} 或 10^{-8}),每一稀释度重复三皿。抹匀,30℃ 培养 2—4 天,尽可能取每皿长 30—50 个菌落的稀释度计数。酵母菌和霉菌计数以改良马丁和麦芽汁培养基上生长的菌为准;细菌以牛肉汁培养基上生长的菌为准,鉴别时除去乳酸菌;乳酸菌则以 MRS 培养基上生长的菌为准,鉴别时除去其他细菌。

二、微生物的鉴别

为了鉴别发酵饲料中微生物的类群和证明这些微生物能在相应培养基上生长,我们选用了已知菌种 44 株,包括酵母菌 14 个属 18 个种共 32 株,细菌 6 个属 12 个种(其中包括乳酸菌 5 个种)。分离时将这些菌株分别接入相应培养基中,作为对照。分离出的细菌和酵母菌,作了形态观察。其中部分酵母菌用 4 种培养基作

生孢子试验。乳酸菌根据形态和过氧化氢酶活性来判断。

三、样品中有机酸的化学分析

(一) 样品 pH 值

采样和分离时各测一次。

(二) 有机酸含量

取样品 8 克,加水 24 毫升,混合后密封,冰箱中放 4 日以上。取 2 毫升浸出液各 4 份,2 份直接用 0.05 N NaOH 滴定,另 2 份在沸水浴中放置一小时蒸发去挥发酸后滴定。

(三) 不挥发酸定性分析

用发酵中常见的不挥发酸:琥珀酸、草酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸和乳酸作对照,同各样品的浸出液一起作纸色谱分析。展开剂用甲醇:正丁醇:甲酸:水 = 45:45:9:1。显色剂用溴酚兰液。

四、水份测定按常规方法(略)

结果和讨论

一、曲种中的微生物

用灭菌原料制成的“前进一号”曲种,在分离时无霉菌生长,长出的酵母菌占微生物总量的 72%,乳酸菌约占 28%。但在制曲时,并未

接种乳酸菌。若以“前进一号”曲种做种子，接入发酵原料中的微生物则是酵母菌和乳酸菌。以“长效”曲种和发酵糠(曲粉)作种子，接入发酵原料中的微生物以其它细菌为主。“长效”曲种几乎 98.8% 是其它细菌，无酵母菌和乳酸菌；而发酵糠除占 70.3% 的其它细菌外，还有相当数量的霉菌、酵母菌和乳酸菌(见表 3)。

传代曲种制曲不经灭菌，均以上一代曲种作种子制做下一代曲。如“703”传代曲种(曲种样品 4、5 号)含乳酸菌都在 90% 以上，“大寨”传代曲种(曲种样品 6—10 号)含乳酸菌在 99% 以上，含酵母菌和其它细菌的量都很少。所以

用传代曲种制作发酵饲料，接入的微生物主要是乳酸菌。

也有用老的发酵饲料代替曲种使用的。如中国人民解放军 4623 部队的“中曲”发酵饲料，使用 4 个多月，传 20 多代。中国人民解放军 181 医院的“长效”发酵饲料，使用 5 年，传 47 代。河北玉田林东公社沈官屯大队的中曲发酵饲料，也是如此。用老的发酵饲料做种子时，种子的用量比较大，可达原料的 10—20%。做种子用的老的发酵饲料中的微生物，也以乳酸菌为主，所以接入发酵原料中的菌类主要还是乳酸菌。

表 3 曲种中的微生物和酸度，pH 值

样品号	微生物* 总数 (10 ⁴ /克)	微生物类别 %				酵母菌数 (10 ⁴ /克)	酵母菌类别 %				pH	乳酸 (%)	挥发酸(醋酸计) (%)
		霉菌	酵母菌	其他细菌	乳酸菌		酵母菌属	皮膜酵母	汉逊属	地霉属**			
1	883	0	72.1	0	27.9	636.7	18.0	0	85.0	0	5.6	1.18	0.27
2	1022	1.2	0	98.8	0	0	0	0	0	0	5.8		
3	81	26.7	18.6	70.3	11.2	21.5	78.3	0	0	21.7	5.2		
4	417	0	6.0	2.8	91.20	25.0	0	60.0	40.0	0	4.4	2.44	0.13
5	611	0	9.0	1.0	90.0	55.0	3.5	84.8	11.7	0	4.2	2.16	0
6	328	0	0.03	0.24	99.73	0.1	0	极少	0	0	4.4	1.69	0.13
7	200	0	0	0.2	99.80	0.03	极少	0	0	0	4.4	1.64	0.17
8	259	0	0.5	0.2	99.30	1.3	66.7	33.3	0	0	4.4	1.71	0.18
9	643	0	0.93	0.02	99.05	6.0	2.0	97.2	0.8	0	4.5	1.21	0.13
10	315	0	0.48	0.06	99.46	1.5	极少	0	0	0	4.5	2.23	0

* 厌氧细菌不计在内。** 按一般习惯暂归入酵母菌类。

二、发酵饲料中的微生物

发酵饲料中的微生物，在一般条件下，大致可概括为：乳酸菌生长旺盛占优势；酵母菌生长不旺盛，其它细菌较少，霉菌几乎不长(见表 4)。

(一) 霉菌

多数曲种都选用黑曲霉、黄曲霉、毛霉、根霉、木霉等作为糖化菌。从表 4 的分离结果看，一般条件下，多数样品未见霉菌生长，在 45 个加霉菌的样品中，只有 8 个有少量霉菌生长，长出的霉菌数在 0.1% 以下(占微生物总量的)其中只有一个样品霉菌数达到 0.32%。如果霉菌加入量大，即使霉菌在发酵过程中不生长，霉菌

产生的酶仍会起糖化作用，但需要遇到适宜的酶解条件。

另有一些样品只加入木霉菌，利用木霉所产生的纤维素酶酶解饲料中的纤维素，并不要求木霉生长，这是另一类饲料的做法。

(二) 酵母菌

多数曲种所使用的酵母菌主要包括酒精酵母(酵母属)、生香酵母(汉逊氏酵母属)、产朊酵母和热带假丝酵母(假丝酵母属)、白地霉(地霉属)等，制曲时一般使用 4、5 种菌，多的也有用近 10 个属 20 多个种。不用纯菌种而用酒曲(或叫酒饼)时，其中主要菌种是酒精酵母。从表 4 看出，发酵饲料中酵母菌的含量，有 6 个样品达 1 亿/克以上，17 个样品达 1 千万/克以上。其余

表 4 发酵饲料中的微生物和酸度、pH 值

样品号	总微生物数 (10 ⁶ /克)	微生物类别(%)				pH*	不挥发酸 (乳酸计) (%)	挥发酸 (醋酸计) (%)	酵母菌数 (10 ⁶ /克)	酵母菌类别(%)						
		霉菌	酵母菌	其它细菌	乳酸菌					酵母菌属	皮膜酵母	汉逊属	假丝属	地霉属	其他	
1	391.2	0	5.5	10.2	89.3	4.7	0.52	0.04	21.5	84.3	5.9	6.9	0	0	2.8	
2	511.5	0	2.8	7.8	89.3	4.7	0.51	0.07	14.8	85.5	5.5	8.7	0	0	0.2	
3	883.0	0	27.1	7.2	65.7	6.2	0.15	近 0	239.0	11.5	50.5	38.1	0	0	0	
4	150.0	0	4.4	11.4	84.2	4.3	1.01	<0.01	6.6	9.7	77.9	12.3	0	0	0	
5	1092.8	0.003	11.30	11.8	76.9	5.1	1.27	0.12	123.5	96.7	3.3	0	0	0	0	
6	1549.7	0	0.19	0	99.81	4.8	1.32	0.14	3.0	72.5	10.0	13.3	0	0	4.1	
7	814.5	0	0.04	0.1	99.85	4.5	1.22	0.10	0.4	90.5	4.8	4.8	0	0	0	
8	1450.8	0	0.90	5.0	93.96	5.0	0.91	0.08	13.8	39.6	16.5	33.1	0	0	10.8	
9	1752.3	0	3.39	0	96.06	4.3	1.02	0.07	69.0	11.2	24.7	38.6	0	0	5.4	
10	1285.3	0	0.4	8.6	91.00	4.3	0.70	0.16	5.3	93.5	4.9	0	1.5	0	0	
11	318.0	0	0.3	1.2	98.50	4.3	0.67	0.07	0.9	95.8	4.2	0	0	0	0	
12	337.7	0	16.5	5.5	78.00	4.8	0.45	0.02	55.7	95.0	2.0	0	3.0	0	0	
13	854.0	0	7.0	14.4	78.50	6.3	0.17	0.03	60.7	33.4	60.9	3.12	2.5	0	0	
14	318.7	0	1.4	0.01	98.6	4.3	0.75	0.07	4.3	64.1	33.7	1.4	0.7	0	0	
15	508.7	0	0.8	0.3	98.9	4.1	0.61	0.14	4.1	83.9	8.5	5.8	0	1.8	0	
16	978.3	0	0.7	0.5	98.8	6.9	0.59	0.10	6.9	9.3	88.8	1.9	0	0	0	
17	862.6	0	0.1	0.2	99.6	1.1	0.60	0.10	1.1	11.4	59.2	28.3	9.7	0	0	
18	743.5	0	0	0.03	99.97	4.4	0.82	0	0	近 0	0	0	0	0	0	
19	187.7	0	0.4	0	99.60	4.2	0.91	0.01	0.7	0	89.1	10.9	0	0	0	
20	403.4	0	0.02	0	99.98	4.4	0.72	0.05	0.1	0	近 0	0	0	0	0	
21	59.4	0	8.2	0.3	91.40	4.2	0.86	0.06	4.9	0	92.9	7.2	0	0	0	
22	2348.5	0	0.1	0.7	99.20	5.2	0.48	0.04	2.0	48.9	29.7	21.4	0	0	0	
23	2471.7	0	<0.1	0.3	99.70	5.2	0.37	0.03	0.4	51.8	48.2	0	0	0	0	
24	580.4	0	11.1	0	88.9	5.4	0.12	0.12	64.7	54.7	45.3		0	0	0	
25	592.8	0	0.5	0	99.5	4.5	0.37	<0.01	2.8	38.9	61.1		0	0	0	
26	1273.3	0	15.4	0	84.6	6.0	0.09	0.07	196.6	40.0	60.0		0	0	0	
27	802.7	0	1.0	0	99.0	4.5	0.14	0.06	7.7	30.3	69.7		0	0	0	
28	1613.7	0	2.7	0	97.3	6.0	0.43	0.02	43.7	23.9	76.1		0	0	0	
29	951.2	0	1.2	0	98.8	4.1	0.70	0.09	11.2	27.0	73.1		0	0	0	
30	1463.3	0	4.8	0	95.2	6.5	0.09	0.03	70.0	7.3	20.3	72.4	0	0	0	
31	582.5	0	0.4	0	99.6	4.4	0.34	0.08	2.5	14.8	29.6	35.6	0	0	0	
32	541.5	0	0.1	0	99.9	4.4	0.40	0.08	1.5	17.1	11.8	71.1	0	0	0	
33	0.003	0	近 0	近 0	近 0	4.2			0.005							
34	0.006	0	近 0	近 0	近 0	4.2			0.01							
35	28.2	0.32	10.97	5.49	83.22	4.2			3.1	0	43.6	2.6	43.6	10.3	0	
36	675.4	0	0.01	0.06	99.93	4.2			0.07	0	0	0	100	0	0	
37	395.4	0.01	0.96	0.38	98.65	5.3			3.8	0	89.5	7.2	3.3	0	0	
38	762.6	0.08	2.89	43.27	53.76	5.3			22.0	0	70.5	4.5	0	25.0	0	
39	118.1	0	0.18	0.72	99.09	4.4			0.2	0	80.6	10.4	4.5	0	4.5	
40	33.2	0.15	6.68	6.48	86.74	4.2			2.2	0	98.4	1.6	0	0	0	
41	159.5	0	近 0	0.11	99.88	4.4	1.26	0.14	0.013	近 0	近 0	0	近 0	0	0	
42	95.0	0	0.27	0.74	98.99	4.5	0.92	0.16	0.26	0	100.0	0	0	0	0	

样品号	总微生物数 (10 ⁶ /克)	微生物类别(%)				pH*	不挥发酸 (乳酸计) (%)	挥发酸 (醋酸计) (%)	酵母菌数 (10 ⁶ /克)	酵母菌类别(%)					
		霉菌	酵母菌	其它细菌	乳酸菌					酵母菌属	皮膜酵母	汉逊氏属	假丝属	地霉属	其他
43		0				5.8	0.54	<0.01	6.0	8.6	83.1	0.3	8.0	0	0
44	106.4	0	10.81	1.5	87.69	5.6	1.42	0.04	11.5	75.0	15.60	0	9.4	0	0
45	61.0	0	70.0	2.62	27.38	5.2	1.22	<0.01	42.7	2.7	96.7	0	0	0	0.6
46	210.0	0	92.96	1.41	5.63	5.8	0.94	<0.01	660.0	7.6	91.6	0	0.8	0	0
47	427.3	0	近 0	14.04	85.96	4.3	1.39	0.11	0.03	0	近 0	0	0	0	0
48	5.0	0	41.65	25.55	32.85	4.5	1.44	<0.01	2.1	0	100	0	0		
49	22971	0	2.5	93.5	4.0	6.3	0.32	近 0	577.0	38.9	54.4	0.7	6.1	0	0
50	13.5	0	0	100	0	6.3	0.45	近 0	0						
51	6.6	0	0	81.4	18.6	4.9	1.24	0.04	0						
52	30.0	0	100	0	0	4.5	1.01	0.09	30.03	100	0	0	0	0	0
53	0.7	0	42.9	0	57.1	4.2	0.78	0.05	6.3	100	0	0	0	0	0
54	11.9	0	0	0	100	4.8	0.57	0.11	0	0	0	0	0	0	0
55	12.0	0	80.8	0	19.2	4.1	1.36	0.06	9.7	98.2	0	0.6	5.1	1.5	0
56	9.7	0	81.2	18.8	0	4.0	1.30	0.04	7.9	1.2	98.8	0	0	0	0
57	263.6	极少	36.4	1.3	62.3	6.2	0.09	0.004	96.0	0	88.5	6.9	0	4.5	0
58	374.6	极少	0.02	0	99.98	4.6	0.15	0.09	0.06	0	70.6	29.4	0	0	0
59	607.9	极少	0.1	2.85	97.05	5.4	0.69	0.04	0.6	28.6	67.6	3.3	0.5	0	0
60	179.7	极少	0.07	12.96	86.97	4.6	0.65	0.009	0.15	35.0	30.0	35.0	0	0	0
61	107.3	极少	0.03	3.73	96.24	4.8	0.45	0.12	0.03	0	100	0	0	0	0
62	9689.7	0.09	5.3	65.4	29.2	8.0	0.08	0.08	517.7	11.0	49.1	0	28.0	12.0	0
63	1806.0	0.006	0.014	18.8	81.0	5.4	0.25	0.01	2.6	2.6	58.4	2.6	0	36.4	0
64	533.4	0.01	0.006	38.1	61.9	4.7	0.96	0.04	0.063	11.1	83.3	0	0	5.6	0
65	148.7	0	0.002	8.1	91.9	4.4	1.06	0.11	0.003	0	近 0	0	0	0	0
66	74.4	0.09	0.004	13.2	86.8	4.3	1.00	0.10	0.003	0	近 0	0	0	0	0
67	601.3	0	1.88	0	98.12	4.4	0.32	0.01	11.3	0	94.5	0	5.5	0	0
68	32.9	0	51.37	0	48.63	4.4	0.43	0.01	16.7	1.2	98.8	0	0	0	0
69	19.4	0	13.92	1.55	84.54	4.6	0.45	0.01	2.7	0	92.0	0	5.3	0	0

* pH 为分离时测定值。 乳酸量系不挥发酸按乳酸计算。

多在百万/克以下。酵母菌的种类归纳为酵母属、皮膜酵母、汉逊氏酵母属、假丝酵母属、地霉属五个大类。前二类占多数。五大类酵母菌中,除皮膜酵母不是接种的以外,其它酵母菌是否就是原来接种进去的,因未与原菌种比较,尚不能判断。

表4还表明,自然发酵的和只接种霉菌的发酵饲料中,也有上述五大类酵母菌,含量也各有高低。现将接种酵母菌与不接种酵母菌(包括自然发酵的)的样品中酵母菌含量进行比较(见表5)。

从表5看出,酵母菌含量在10⁶/克以上的样品中,接种过酵母菌的样品,占全部样品的63.3%,未接种的样品中也占68.7%。如按酵母菌的类别统计,酵母属含量(占酵母菌总数)在20%以上的样品中,接种过酵母菌的样品占30.5%,未接种的占25.1%;接种过酵母菌的样品中皮膜酵母占51.3%,未接种的样品中皮膜酵母占68.9%。由此数据看,它们虽有差别,但并不大,说明酵母菌接种与否,对发酵饲料中酵母菌的类别及数量影响不大。

皮膜酵母属于腐败菌类,在通气较好的条

表 5 酵母菌接种与否与发酵饲料中酵母菌含量的关系

发酵饲料接种类型		每克发酵饲料酵母菌含量						样品总数
		近 0	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	
接种酵母菌	样品数	6	5	7	14	12	5	49
	占总样品百分数(%)	12.2	10.2	14.3	28.6	24.5	10.2	100
未接种酵母菌	样品数	1	2	2	7	3	1	16
	占总样品百分数(%)	6.3	12.5	12.5	43.8	18.7	6.3	100

表 6 乳酸菌不同含量的样品统计

三类发酵样品		乳酸菌占微生物总量 %						样品合计
		<70	70—79.9	80—89.9	90—94.9	95—89.9	>99	
曲种中接种酵母菌和霉菌	样品数	11	3	10	4	6	14	48
	%	22.9	6.3	20.8	8.3	12.6	29.2	100
曲种中接种霉菌	样品数	3	0	3	0	1	2	9
	%	33.3	0	33.3	0	11.1	22.2	100
自然发酵	样品数	4	0	0	0	4	1	9
	%	44.4	0	0	0	44.4	11.1	100
合 计	样品数	18	3	13	4	11	17	66
	%	27.3	4.5	19.7	6.1	16.7	25.8	100

件下生长很快。

(三) 乳酸菌和乳酸

在制做发酵饲料和制曲时,均不接种乳酸菌,但从发酵饲料和曲种中分离到的细菌,则以乳酸杆菌为主。如“前进一号”曲种和“长效”发酵糠中都含有一定量的乳酸菌,传代曲种内的含量更大。在不加任何曲种或专用霉菌的发酵饲料,也存在大量的乳酸菌。由此可见,制曲或发酵饲料中的乳酸菌是由原料中带入而繁殖起来的。

乳酸菌在发酵饲料中不仅普遍存在,数量也大。发酵饲料中加曲与否,内含的乳酸菌均占绝对优势。从表 6 三类样品合计中看出,占总样品(66 个)2/3 的样品(45 个)中乳酸菌含量在 80% 以上;占总样品 1/4 的样品(17 个)中,乳酸菌含量几乎达 99% 以上。

乳酸菌的繁殖很快,发酵一天,含量可达 80% 以上;两天达 90% 以上,因受发酵条件影

响,也有含量颇低的情况。由于贮存时间过长,乳酸菌含量下降。如嘉兴的样品已贮存一月以上,含量极少;中国人民解放军 181 医院贮存一年的长效曲饲料样品中几乎任何微生物都不存在。

既然乳酸菌是主要的发酵菌,那么发酵产物应该主要是乳酸。从表 4 和图 1 看到,经酸度测定和纸层析定性分析证明,发酵饲料中的酸以不挥发酸——乳酸为主,挥发酸含量很少。在未经定性分析挥发酸是什么酸时,可设想是某些乳酸菌进行异型乳酸发酵而产生的醋酸,或醋酸菌氧化产生的酒精成醋酸,厌氧菌类发酵产生的醋酸和丁酸等挥发酸,也有产生饲料中酸气味的可能。

(四) 其它细菌

大多数发酵饲料中,除乳酸菌外,其它细菌的含量较酵母菌少。其它细菌包括有:芽孢杆菌、无色杆菌、小球菌、假单胞菌等;用水生青料

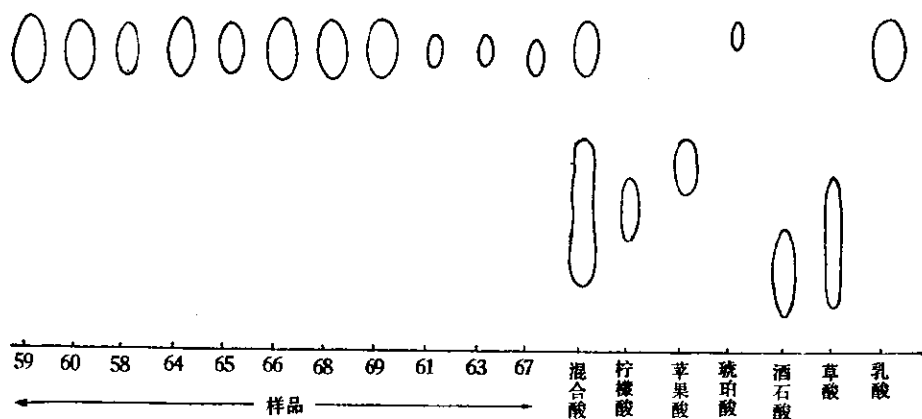


图 1 不同样品中不挥发酸的纸层析分离图型

发酵的饲料中还有较多的肠细菌。这些细菌都不是制曲时接入的。其它细菌多是好氧菌类，在通气良好的条件下，繁殖很快，它们普遍存在于腐败的动植物遗体和食品中，使一些品质较差的发酵饲料，尤其是青饲料产生一种腐烂气味。由于细菌迅速繁殖产生了大量的热，这对发酵初期迅速提高品温以利其它微生物繁殖，是有很大帮助的。

在讨论以上分离结果时应当指出，样品中含各类微生物的数量多少不一定和它所起作用的大小相当。如酵母菌数量虽少，其个体体积却比细菌大 10—100 倍。其总体积可与起主要作用的乳酸菌相当或更大。至于它所起的作用如何还有待进一步研究。另外，在分离时很少有霉菌长出，这可能与发酵条件不利于形成霉菌孢子，或稀释时菌丝很难散开显得菌落特别少等因素有关。从菌体重量看，按一般酵母重量为 10^{-10} 克/个；细菌为 $1-3 \times 10^{-12}$ 克/个，酵母菌和细菌的总重量约为饲料重的 0.1%，也有部分在 0.1—1.0% 之间，个别超过 1.0%。若就增加菌体蛋白而言，其数量是很微小的。由此说明了用化学法分析发酵饲料时，蛋白质的增加极不明显的原因。

另外，分离中长出的微生物种类和数量，只

代表“活菌”情况，发酵过程中的“死菌”不能查出。

三、发酵条件对微生物生长的影响

综上所述，不论发酵饲料用那一个曲种或用与不用，对于发酵饲料中微生物的种类和数量、酸的种类和含量都没有显著的影响。发酵饲料的发酵条件虽然不同，但仍能造成相似的结果。

(一) 原料

发酵原料种类较多，一般是用多种原料混合发酵。发酵饲料中的微生物种类和数量，并无明显规律性的差异。主要原料中是否添加精料或拌料(即含糖原料)以及添加多少，虽然对微生物的种类和数量无明显差异，但对乳酸产量有显著不同，从表 7 中四种添加不同糖量的样品(较多、中等、一般、少)可看出，在一定限度内，糖多，乳酸含量就高。但也有例外，如 29 号样品用玉米粉 50%，产酸仅 0.7%；32 号用曲 10%，产酸仅 0.4%。而 63—66 号样品用干青草为原料，产酸反而高达 1.06%。

又如表 7 中含糖较多、中等及一般三类型样品中，乳酸平均含量分别为 2.14%、1.33%、0.81%，最高含量不超过 2.44%。均说明糖的

表 7 发酵饲料中含糖量与乳酸含量, pH 的关系

含糖相对量	发 酵 饲 料 样 品							平 均
较 多	pH	4.4	4.2	4.4	4.5			4.4
	酸%	2.44	2.16	1.71	2.23			2.14
中 等	pH	4.5	4.4	4.6	5.2	4.3	4.5	4.6
	酸%	1.22	1.26	1.42	1.22	1.39	1.44	1.33
一 般	pH	4.2	4.2	4.3	4.2	4.3	4.3	4.3
	酸%	0.91	0.86	1.01	0.75	0.60	0.70	0.81
少	pH	4.5	4.5	4.6				4.5
	酸%	0.37	0.14	0.15				0.22

注: 1. 选用同一份饲料中含酸量最高的样品分析值。

2. 样品号数: 较多: 4、5、6、7、8; 中等: 7、41、44、45、47、48; 一般: 4、10、14、17、19、21; 少: 25、27、28。

3. 中等样品多为含水少, 通气好。

大量增加并不会使乳酸产量无限制提高, 这与乳酸菌的耐酸能力有关。用酒糟和鸡粪作原料发酵的, 如 62、50、51 样品中, 其它细菌多为假单胞菌, 这与一般发酵饲料不同。

(二) 水份

拌料用水, 一般以手握成团指缝溢出水滴为标准。用干粗料为原料的用水量为原料量的 100—120%。用青料为原料的加 30% 粉糠调节, 加粉糠量要看其细度和青料含水程度而增减。按此标准加水, 一般发酵饲料的含水量约为 60—70%, 发酵正常。

有含水量较少的样品如 43—46 号, 加水量仅为原料中统糠量的一半; 48 号样品用水量为原料的 40%。另有 50 及 51 号样品用水也少。这些发酵饲料手捏不能成团, 不能出水, 都呈散粉状, 发酵时都是小堆堆放, 升温快而且高, 发酵后原料的外观不见变黄变软, 微生物总量一般较低, 在 10^7 以下, 其中乳酸菌含量也较低, 在 30% 以下。酵母菌繁殖数量很大 (用鸡粪为原料的 50、51 号除外), 其中皮膜酵母占优势。

也有含水量较多的样品如 67—69 号, 是木霉酶解样品, 用水量为原料的 7 倍; 58 号是水泡自然发酵, 用水量为原料的 3 倍, 61 号用水量为原料的 2 倍。前二者装缸封闭, 后者堆积。发酵 1—2 日后, 除 58 号样品外, 其它样品 (67—69 号, 61 号) 的总菌量都较低, 都以乳酸菌占

优势, 但不论含糖量多少, 产酸量都低, 各为 0.32、0.43、0.45、0.45。酵母菌 (主要是皮膜酵母) 和其它细菌都很少。

根据上述情况看, 原料水份少, 通风好, 利于皮膜酵母繁殖, 不利于乳酸菌生长; 原料的水份多, 不封闭, 利于乳酸菌生长, 但总菌数少, 产酸低。38 号样品是用青料进行发酵, 含水多, 会有臭烂的可能。

(三) 通气

北方发酵饲料多用干粉原料, 堆一日封缸或直接封缸; 南方多用青料堆积发酵。两类发酵方式的通气情况不同, 对微生物的繁殖和发酵影响较大。如果不考虑其他条件, 只将 18 个封闭样品和 11 个堆积样品中微生物情况作一比较 (见表 8), 即可看到, 封闭的比堆积的总菌数多一半以上, 乳酸菌数多 $1/3$, 而酵母菌和其他细菌则少很多。酵母菌总数的绝对值, 堆积的为封闭的 7 倍, 其中皮膜酵母占 56%, 这一统计数据基本符合菌类的生长条件: 好氧的皮膜酵母在堆积的发酵饲料中占多数, 微好氧的乳酸菌在封闭的发酵饲料中占优势。因此, 从发酵饲料的质量要求来看, 以少接触空气为好。

封闭式发酵, 尽管与外界空气隔绝, 但在原料装缸封闭时, 仍存留少量空气, 由同一份封闭的发酵饲料的上部 (离表面约 5—10 公分) 和中部取样, 统计其中微生物的情况见表 9。由

表 8 封闭式与堆积式发酵饲料中微生物的比较

发酵方式	总菌数	各类菌所占百分率			酵母菌 总 数	各类酵母菌所占百分率%					
		酵母菌	其他细菌	乳酸菌		酵母菌属	皮膜酵母	汉逊属	假丝属	地霉属	其他
封 闭	781.9	1.6	2.6	95.8	12.0	41.9	27.7	21.4	0.01	0	1.3
堆 积	517.8	21.0	14.6	64.0	80.0	17.8	55.8	1.3	1.2	6.1	0.05

注：单位 $10^6/\text{克}$

封闭样品号：1、2、6、7、8、9、10、11、16、17、18、19、20、21、30、31、32、60 共 18 样。

堆积样品号：14、37、38、44、45、46、48、63、64、65、66 共 11 样。

表 9 同一封闭的发酵饲料中上部及中下部微生物的比较

样 品 号		总 菌 数		酵母菌数		乳酸菌数		其他细菌数	
上	中下	上	中下	上	中下	上	中下	上	中下
1	2	319	512	21.5	14.8	330	457	39.7	39.7
6	7	1550	815	3.0	0.4	1547	813	0	0.8
8	9	1451	1752	13.8	69.0	1363	1683	73.7	0
10	11	1285	318	5.3	0.9	1170	313	110.0	3.8
16	17	978	863	6.9	1.1	967	860	4.7	1.5
18	19	744	188	0	0.7	743	187	0.2	0
20	21	403	59	0.1	4.9	403	54	0.02	8.2
24	25	580	593	64.7	2.8	516	590	0	0
26	27	1273	803	196.6	7.7	1077	795	0	0
28	29	1614	951	43.7	11.2	1570	940	0	0
31	32	583	542	25.0	1.5	580	540	0	0
平	均	986.8	672.4	34.6	10.5	933.2	657.5	20.7	4.9

表 9 见到, 11 对样品中, 总菌数和各类微生物的平均含量, 都是上部比中下部较多, 乳酸菌数上部比中下部多 $1/3$, 酵母菌和其他细菌数上部比中下部多 4 倍以上。

(四) 温度

堆积发酵的样品发酵温度, 高达 $50-65^{\circ}\text{C}$, 封闭发酵的样品发酵温度很少超过 40°C , 这与含水量和与空气接触程度有关。温度虽然是影响因素之一, 但只从温度变化不易看出对微生物的影响。

小 结

1. 在适当条件下, 饲料的发酵, 无论添加曲

种与否, 其中微生物的种类和数量差别不大。

2. 发酵饲料中的微生物以乳酸菌占绝对优势; 酵母菌和其它细菌少量; 霉菌基本不长。酵母菌中以酵母属或皮膜酵母最多, 这主要决定于用水量和通气程度。

3. 与占优势的乳酸菌相对应的发酵产物主要是乳酸。乳酸产量随添加的糖原料的增加而相应增加, 乳酸量可高达 2.44% , 但有一定的限度。并受水份多少和通气程度等条件的影响。

4. 水份少、通气好, 不利于乳酸菌繁殖产酸, 而利于皮膜酵母繁殖。水份过大, 乳酸菌数量低, 也不利于产酸。