

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480002221.7

[51] Int. Cl.

A23K 1/00 (2006.01)

A23K 3/03 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 2 月 22 日

[11] 公开号 CN 1738541A

[22] 申请日 2004.1.14

[21] 申请号 200480002221.7

[30] 优先权

[32] 2003.1.14 [33] JP [31] 005750/2003

[32] 2003.6.23 [33] JP [31] 178220/2003

[86] 国际申请 PCT/JP2004/000209 2004.1.14

[87] 国际公布 WO2004/071209 日 2004.8.26

[85] 进入国家阶段日期 2005.7.14

[71] 申请人 味之素株式会社

地址 日本东京都

[72] 发明人 竹田元治 若林真 后藤正和

塚原明 汤村孝治

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 郭煜 王景朝

权利要求书 1 页 说明书 14 页 附图 9 页

[54] 发明名称

青贮饲料添加剂以及使用其的青贮饲料的制备方法

[57] 摘要

本发明提供改善青贮饲料发酵,同时补充家畜营养、成本低廉的青贮饲料添加剂。本发明涉及含有调节至 pH3.0-6.0 酸性区的氨基酸发酵副生液的青贮饲料添加剂。

1. 青贮饲料添加剂，其含有调节至 pH 3.0-6.0 酸性区的氨基酸发酵副生液。

2. 权利要求 1 的青贮饲料添加剂，其中氨基酸发酵副生液是 L-谷氨酸、L-赖氨酸或 L-苯丙氨酸发酵副生液。

3. 青贮饲料的制备方法，其特征在于：按照原料鲜重，向青贮饲料原料中添加 1.0-10.0%调节至 pH 3.0-6.0 酸性区的氨基酸发酵副生液，使其厌氧性发酵。

4. 权利要求 3 的青贮饲料的制备方法，进一步添加乳酸菌和糖类。

5. 权利要求 3 或 4 的青贮饲料的制备方法，其中氨基酸发酵副生液为 L-谷氨酸、L-赖氨酸或 L-苯丙氨酸发酵副生液。

青贮饲料添加剂以及使用其的青贮饲料的制备方法

技术领域

- 5 本发明涉及使青贮饲料发酵中的乳酸菌繁殖、可长时间保存而无损青贮饲料原料的品质、抑制二次发酵(需氧性腐败)、改善消化性、同时具备使其含有氮成分的对家畜有效的青贮饲料添加剂,以及使用该添加剂的青贮饲料制备方法。

背景技术

- 10 作为各种牧草等粗饲料和麦类、玉米类、黍类·饲料用稻等饲料作物,豆腐渣、甘薯或马铃薯淀粉渣、酒糟等食品制造的副产品以及由餐饮产业或食品流通业产生的残渣等的贮藏·保存方法的青贮饲料的制备,是阻断空气,形成缺氧状态,通过乳酸发酵,使其 pH 急剧下降,在青贮饲料发酵初期阶段抑制需氧菌的生长,抑制随即发生的缺氧初期的丁酸发酵,由此保存饲料的营养性和适口性的方法。以往,反刍家畜·猪以及家禽的饲料原料的贮藏·保存以及品质改善方法通常都是在畜产现场进行的。防止青贮饲料初期发酵产生问题的方案是通过添加甲酸、甲酸铵、柠檬酸等酸化剂来抑制不良发酵。青贮饲料在初期发酵后,紧接着进行正式发酵——厌氧发酵,为了促进该厌氧发酵,需要促进附着于原料上的乳酸菌的增殖以及降低与其相伴的 pH,为此添加各种乳酸菌制剂作为增殖引子(starter),另外添加糖蜜、葡萄糖等作为糖源。乳酸菌发酵结束后,或者青贮饲料开封后的二次发酵(需氧性腐败)使得青贮饲料品质变差,为防止该变差,需要添加丙酸等防腐剂。另一方面,青贮饲料乳酸发酵对植物原料中较多含有的纤维成分几乎不具有分解能力,为改善原料的可消化性,还需单独或混合添加酶制剂、尿素、氨等。
- 15 20 25

- 对于青贮饲料的品质来讲,最重要的工艺是乳酸发酵,即使不添加高价的乳酸菌制剂,通常天然原料中也附着有 10^3 程度的乳酸菌,因此本来可由其进行发酵。但是,在青贮饲料的制备过程中,条件各异,乳酸菌丛以及乳酸菌丛与不良发酵菌丛的优先关系也不尽相同,人们需求在任何制备条件下都可以强力促进乳酸发酵的方法。
- 30

作为青贮饲料的制备对象的各种牧草等粗饲料和麦类、玉米类、

黍类·饲料用稻等饲料作物，豆腐渣、甘薯或马铃薯淀粉渣、酒糟等食品制造的副产品以及由餐饮产业或食品流通业产生的残渣等都为纤维质，大多可消化性不好，从营养性的角度来看，改善纤维成分的可消化性是极为重要的。因此市场有氨·尿素、高价的纤维分解酶等销售，但前者的处理有危险操作步骤。人们要求开发具有改善青贮饲料品质

5 品质和可消化性的效果、成本低、容易操作且没有危险性的添加物。

豆腐渣、甘薯或马铃薯淀粉渣、酒糟等水分高、富含糖分的食品制造副产品以及由餐饮产业或食品流通业产生的残渣在生产后数小时内即发生腐败，虽然含有丰富的家畜营养源，但是被作为工业废弃物

10 处理。人们需求将这些食品制造残渣通过低成本、操作简单的保存处理来作为饲料原料使用。

发明内容

本发明的目的在于提供用于改善青贮饲料品质的添加剂，该添加剂用于制备使青贮饲料发酵中的乳酸菌增殖、富于保存性、高乳酸含

15 量、不进行二次发酵（需氧性腐败）且高可消化性、氮成分含量也优异的对家畜有效的青贮饲料。

本发明的另一目的在于提供青贮饲料的制备方法，所述方法使用该青贮饲料添加剂，可制备消化率提高、饲料价值高的青贮饲料。

本发明人为实现上述目的进行了深入的研究，结果发现工业上价廉且可大量获得的氨基酸发酵副生液符合本目的，可用作青贮饲料添

20 加剂，从而完成了本发明。

即，本发明第一方面涉及青贮饲料添加剂，其含有调节至 pH 3.0-6.0 酸性区的氨基酸发酵副生液。

本发明第二方面涉及青贮饲料添加剂，其中氨基酸发酵副生液为

25 L-谷氨酸、L-赖氨酸或 L-苯丙氨酸发酵副生液。

本发明第三方面涉及青贮饲料的制备方法，其特征在于：按照原料鲜重，向青贮饲料原料中添加 1.0-10.0% 调节至 pH 3.0-6.0 酸性区的氨基酸发酵副生液，使其厌氧性发酵。

本发明第四方面涉及青贮饲料的制备方法，其进一步添加乳酸菌

30 和糖类。

本发明第五方面涉及青贮饲料的制备方法，其中氨基酸发酵副生液为 L-谷氨酸、L-赖氨酸或 L-苯丙氨酸发酵副生液。

本发明中所使用的氨基酸发酵副生液是在以糖蜜、木薯·玉米等各种碳水化合物原料为糖源，含有氨、硫酸铵等各种氨态氮原料作为氮源的培养基上培养氨基酸生产菌，从所得氨基酸发酵液中分离除去氨基酸时产生的副生液。

5 具体来说，这里所述副生液是

① 对谷氨酸等酸性氨基酸、苯丙氨酸、苏氨酸、色氨酸等中性氨基酸的各种氨基酸发酵液用硫酸、盐酸等无机酸将 pH 调节至等电点，将析出的该氨基酸固液分离，此时所得的母液及其浓缩液，以及将其脱盐浓缩时产生的液体。还有，母液除菌后的液体及其浓缩液，以及
10 将其脱盐浓缩时产生的液体。作为其中包含的物质，有作为国际饲料注册的谷氨酸副产物(浓缩液)、国际饲料编号 (IFN) 5-01-595。

② 对赖氨酸等碱性氨基酸发酵液用硫酸、盐酸等无机酸调节 pH 后，使其通过强酸性阳离子交换树脂，吸附该氨基酸后的流出液及其浓缩液，以及将其脱盐浓缩时产生的液体。还有，母液除菌后的液体
15 及其浓缩液、以及将其脱盐浓缩时产生的液体。

这些氨基酸发酵副生液的 pH 全部在 3.0-6.0 酸性一侧。其成分除氨基酸之外，作为氮，还富含挥发性碱态氮、氨基酸有机态氮和来自发酵菌体的氮。另外，作为矿物质，富含来自用于调节氨基酸发酵液 pH 的无机酸的硫、氯。另外，还含有上述以外的矿物质、维生素、糖
20 类、有机酸、发酵菌体等作为微量成分。以上的成分是青贮饲料发酵微生物和瘤胃微生物的营养成分。

作为青贮饲料原料，例如有各种牧草、稻草等粗饲料以及麦类、玉米类、黍类·饲料用稻等浓缩饲料，豆腐渣、甘薯或马铃薯淀粉渣、酒糟等食品制造副产物，以及由餐饮产业或食品流通业产生的残渣
25 等。相对于原料鲜重添加 1.0-10.0%氨基酸发酵副生液，并优选将水分含有率调节至 60-70 重量%，根据情况可以使其进一步含有糖类和乳酸菌。均匀混合搅拌后，装入固定式或可移动式青贮窖或聚乙烯、聚丙烯等合成树脂性青贮袋中密封，使其厌氧性发酵 40 天左右，经过上述简单的操作即可青贮化，能够长时间贮藏。

30 开封后，置于有氧条件下，也几乎不会发生酵母、霉菌等的二次腐败，对于青贮饲料品质的提高和稳定有很大贡献。

作为糖类，可以使用糖蜜、还原糖(例如麦芽糖、乳糖、蔗糖、海

藻糖、葡萄糖等)。糖类的添加量是以原料的糖含量为基础,使糖含量为鲜重的 2%或以上合适。

可以根据需要添加乳酸菌制剂作为引子。可用作适当的乳酸菌制剂的菌种有:植物乳杆菌(*Lactobacillus Plantarum*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)等。添加量根据原料的糖含量而不同,优选为原料鲜重的 0.05-1.0%。

利用糖蜜作为糖类时,优选预先与氨基酸发酵副生液按照 10-80% 的混合比例(重量比)进行调整。

附图说明

10 图 1 是表示使用单独的母液、单独的糖蜜、母液-糖蜜混合液或单独的葡萄糖作为制备青贮饲料用的添加剂,培养青贮饲料乳酸菌植物乳杆菌时吸光度随培养时间的变化的图。

图 2 是表示使用母液添加量不同的母液-糖蜜混合液作为制备青贮饲料用的添加剂进行大麦整株装瓶(whole crop bottled)青贮试验时,所制备的青贮饲料中乳酸、乙酸、丁酸占总有机酸的比例的图。

图 3 是表示使用母液添加量不同的母液-糖蜜混合液作为制备青贮饲料用的添加剂进行大麦整株装瓶青贮试验时,根据母液添加比例不同,青贮饲料的粗蛋白含量变化的图。

20 图 4 是使用单独的母液、单独的糖蜜、母液-糖蜜混合液或单独的葡萄糖作为制备青贮饲料用的添加剂,培养青贮饲料酵母时吸光度随培养时间的变化的图。

图 5 是表示对照区和添加母液处理区的青贮饲料刚开封后以及 8 天后的乙醇含量的图。

25 图 6 是表示对照区和添加母液处理区的乙醇含量增加率(8 天后/刚开封后)的图。

图 7 是表示对照区和添加母液处理区的青贮饲料刚开封后以及 8 天后的有机酸含量的图。

图 8 是表示对照区和添加母液处理区的有机酸含量增加率(8 天后/刚开封后)的图。

30 图 9 是表示对照区和添加母液处理区的各青贮饲料茎叶部分 NDF 含量的图。

图 10 是表示对照区和添加母液处理区的瘤胃原位消化试验中,在

牛的第一胃内浸泡 24 小时后的干物消失率和 NDF 消化率的图。

图 11 是表示分别用三种氨基酸发酵副生液作为制备青贮饲料用的添加剂进行意大利黑麦草装瓶青贮试验时的 pH 的图。

图 12 是表示对照区和添加三种氨基酸发酵副生液试验区中总有机酸浓度的图。

图 13 是表示对照区和添加三种氨基酸发酵副生液试验区中乳酸、乙酸占总有机酸的比例的图。

图 14 是表示进行甘薯淀粉渣袋装青贮试验时得到的对照区和添加母液处理区青贮饲料的各 pH 的图。

图 15 是表示进行甘薯淀粉渣袋装青贮饲料试验时在对照区和添加母液处理区制备的青贮饲料中各有机酸占总有机酸的比例的图。

具体实施方式

以下通过实施例 1-9 具体说明本发明。另外，实施例 1-7 和 9 中所采用的氨基酸发酵副生液是作为液体副产氮肥 (PAL) 登记 (登记编号：生第 74220 号)、pH 4.5、总氮量 5.0 重量% (其中氨性氮 3.5 重量%) 的苯丙氨酸发酵副生液 (以下简称为“母液”)。

实施例 1：使用代表性的青贮饲料乳酸菌进行的分离菌培养试验

作为糖源，按照 100:0-0:100 的混合比例 (重量比) 制备母液与糖蜜的混合液，将该混合液添加到 804 液体培养基 (5 g 酵母提取物、5 g 蛋白胨、0.1 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、1000 ml 蒸馏水、pH 7.0) 中，使还原糖浓度为相当于 0.5 重量%的量，将乳酸菌植物乳杆菌 (*Lactobacillus Plantarum*) 在 30℃ 下进行液体静置培养。这里所用的糖蜜是糖厂的副产品，水分为 25-30 重量%，糖含量约为 50 重量%。

作为对照区，设定葡萄糖浓度为 0.5 重量%的 804 液体培养基。混合比和简称的具体内容如表 1 所示。

表 1

母液与糖蜜的混合液的混合比和简称

简称	母液 100	母液 80	母液 60	母液 50	母液 40	母液 20	糖蜜
母液: 糖蜜	100: 0	80: 20	60: 40	50: 50	40: 60	20: 80	0: 100

培养方法是：将乳酸菌植物乳杆菌 (*Lactobacillus Plantarum*) 在 804 液体培养基 (10 ml) 中培养 24 小时，制成种菌 (pH 4.87)。

接着作为正式培养，将各 200 μ l 预培养的菌植物乳杆菌

(*Lactobacillus Plantarum*) 分别接种于 804 基本液体培养基 (10 ml) 中 (使用 16 ϕ 试管), 在 30℃ 恒温水槽中进行液体静置培养。

每隔 3 小时从该培养基中取样 200 μ l, 直至 48 小时, 在 15,000 rpm、5 分钟的条件下进行离心分离。然后, 倾去上清, 加入 200 μ l 灭菌蒸馏水进行洗涤, 再次离心分离。最后再次倾去上清, 用灭菌蒸馏水稀释至可用 600 nm 波长进行测定, 在 600 nm 波长下测定吸光度 (OD)。图 1 表示吸光度随培养时间的变化。另外, 吸光度的增加表示植物乳杆菌增殖。

由图 1 所示的结果可知: 通过添加母液, 青贮饲料乳酸菌急剧增殖, 特别是青贮饲料发酵初期可见的乳酸菌的增殖在 5 小时 - 9 小时之间进行。

确认在同时进行的丁酸梭菌 (*Clostridium butylicum*) 等使青贮饲料发酵变差的不良发酵菌的分离菌培养时, 母液也同样有增殖效果。但是, 增殖开始是在 12 小时 - 16 小时, 比乳酸菌的增殖开始晚。与乳酸菌的增殖促进作用的差异是明显的, 实际情况下, 即使添加母液, 这些不良发酵菌也难以表达, 这可通过以下所示的大麦整株试验证实。

实施例 2: 大麦整株装瓶青贮试验

按照 80:20-20:80 的混合比例 (重量比) 制备母液与糖蜜的混合液, 进行添加, 使之相对于材料大麦整株的鲜重为 3%, 将其装入 1 L 瓶中 (装瓶密度 500 g FW/L) 进行青贮试验。

制备未添加母液的青贮饲料作为对照区。混合比和简称的具体内容如表 2 所示。

表 2

母液与糖蜜的混合液的混合比和简称

简称	母液 80	母液 60	母液 50	母液 40	母液 20
母液: 糖蜜	80: 20	60: 40	50: 50	40: 60	20: 80

制备青贮饲料后第 40 天开封, 取样, 加入 10 倍量的蒸馏水, 用混合器粉碎, 用纱布过滤。将滤液在 15,000 rpm、5 分钟、5℃ 的条件下离心分离。在上清中添加 2 倍量的 6% 高氯酸并搅拌, 再以同样的条

件进行离心分离。将上清用 0.45 μm 滤器过滤，通过液相色谱法测定乳酸和挥发性脂肪酸(以下将这些酸总称为“有机酸”)。

表 3 表示有机酸生成量与干物损失率的结果，图 2 表示乳酸、乙酸、丁酸占总有机酸的比例。

5

表 3

有机酸生成量与干物损失率的结果

供试样品	对照区	母液 20	母液 40	母液 50	母液 60	母液 80
有机酸生成量(%FW* ¹)						
乳酸	0.11	0.28	0.59	0.29	0.37	0.17
乙酸	0.27	0.18	0.17	0.12	0.19	0.11
丁酸	0.11	0.20	0.13	0.07	0.07	0.07
合计	0.49	0.66	0.89	0.48	0.63	0.35
干物损失率(%)	17.6	13.4	17.3	16.4	13.8	12.0

*1: 鲜重

由表 3 和图 2 可知：对于乳酸占总有机酸的比例，添加母液区比对照区高。这显示乳酸菌的厌氧发酵比不良发酵菌优先进行。结果，也显示出降低干物损失率的效果。

另外，对于乙酸占总有机酸的比例，添加母液区比对照区低。这显示将糖只分解为乳酸的同型乳酸菌优先于将糖分解为乳酸、乙酸、碳酸和水的异型乳酸菌进行增殖。该结果也导致降低干物损失率的效果。

并且，对于丁酸占总有机酸的比例，母液比例为 50 重量%或以上的添加母液处理区比对照区低。该结果导致抑制不良发酵、降低干物损失率的效果。

通过添加母液使其具有氮成分，青贮饲料的粗蛋白含量随着母液添加比例的增加而增加。该结果如图 3 所示。

实施例 3: 由青贮饲料分离出的酵母的培养试验

按照 100: 0-0: 100 的混合比例(重量比)制备母液与糖蜜的混合液，将该混合液添加到 PYG 液体培养基(10 g 蛋白胨、5 g 酵母提取物、

1000 ml 蒸馏水、 pH 6.7-6.8) 中，使还原糖浓度为相当于 0.5 重量% 的量，将青贮饲料酵母在 30℃ 下进行液体静置培养。

作为对照区，设定葡萄糖浓度为 0.5 重量% 的 PYG 液体培养基。混合比和简称的具体内容如表 4 所示。

5

表 4

母液与糖蜜的混合液的混合比和简称

简称	母液 100	母液 80	母液 60	母液 50	母液 40	母液 20	糖蜜
母液：糖蜜	100： 0	80： 20	60： 40	50： 50	40： 60	20： 80	0： 100

培养方法是：首先，作为预培养，将青贮饲料酵母在 PYG 液体培养基(10 ml) 中培养 24 小时，制成种菌(pH 6.7-6.8)。

接着，作为正式培养，将各 200 μl 预培养的青贮饲料酵母菌分别接种于 PYG 液体培养基(10 ml) 中(使用 16 φ 试管)，在 30℃ (培养箱) 振荡培养(200 往复/分钟)。

每隔 4 小时从该培养基中取样 100 μl，直至 16 小时，在 15,000 rpm、5 分钟 的条件下进行离心分离。然后倾去上清，加入 100 μl 灭菌蒸馏水进行洗涤，再次离心分离。最后再次倾去上清，用灭菌蒸馏水稀释至可用 600 nm 波长进行测定，在 600 nm 波长下测定吸光度(OD)。图 4 表示吸光度随培养时间的变化。另外，吸光度的增加表示青贮饲料酵母菌增殖。

图 4 所示的结果表明：通过分离培养，随着母液添加比率的上升，在青贮饲料初期发酵中引发问题的酵母生长受到显著抑制。

另外，本试验是酵母的正常培养试验，其状况与青贮饲料开封后的有氧、适度的湿度、温度、养分(乳酸、残余糖等)大致类似。因此，该结果是青贮饲料开封后第一个开始活动的酵母的活动受到抑制的实证数据之一。

实施例 4: 通过开封后的二次发酵(需氧性腐败)进行的青贮饲料品质评价试验(乙醇含量的测定)

在大麦整株装瓶青贮试验中，制备青贮饲料，制备后第 40 天开封，测定刚开封后以及 8 天后的乙醇含量。按照 80: 20-20: 80 的混合比例(重量比)制备母液与糖蜜的混合液，进行添加，使之相对于材料大麦

整株的鲜重为 3%，将其装入 1 L 瓶中(装瓶密度 500 g FW/L)，制备大麦整株青贮饲料。

制备未添加母液的青贮饲料作为对照区。混合比和简称的具体内容如表 5 所示。

5

表 5

母液与糖蜜的混合液的混合比和简称

简称	母液 80	母液 60	母液 40	母液 20
母液：糖蜜	80：20	60：40	40：60	20：80

10 将制备后第 40 天的青贮饲料每天搅拌 1 小时左右，实施与空气混合的处理。刚开封后以及 8 天后取样，测定乙醇含量。对照区和添加母液处理区的青贮饲料在刚开封后以及 8 天后的乙醇含量的测定结果如图 5 所示。另外，对照区和处理区的乙醇含量增加率(8 天后/刚开封后)如图 6 所示。

15 由图 5 和 6 可知：在母液比例高的添加母液处理区，青贮饲料开封后的乙醇含量低。

乙醇在青贮饲料中原本是由酵母或异型乳酸菌生成的。两者均为兼性厌氧菌。开封后虽然为有氧状态，但如本试验那样，将糖容易残留的材料(有时谷粒部分作为糖分残留)制成青贮饲料时，上述微生物的活动可以持续一段时间。由本试验的结果可见：随着母液添加比率的提高，这些微生物的活动受到抑制。

20 实施例 5: 通过开封后的二次发酵(需氧性腐败)进行的青贮饲料品质评价试验(有机酸含量的测定)

通过实施例 2 进行的大麦整株装瓶青贮试验制备青贮饲料，制备后第 40 天开封，测定刚开封后以及 8 天后的有机酸含量。

25 制备未添加母液的青贮饲料作为对照区。混合比和简称的具体内容如表 6 所示。

表 6

母液与糖蜜的混合液的混合比和简称

简称	母液 80	母液 60	母液 40	母液 20
母液：糖蜜	80：20	60：40	40：60	20：80

将制备后第 40 天的青贮饲料每天搅拌 1 小时左右，实施与空气混合的处理。刚开封后以及 8 天后取样，测定有机酸含量。对照区和添加母液处理区的青贮饲料在刚开封后以及 8 天后的有机酸含量的测定结果如图 7 所示。另外，对照区和处理区的有机酸含量增加率(8 天后/刚开封后)如图 8 所示。

由图 7 和 8 可知：在母液比例高的添加母液处理区，青贮饲料开封后的乳酸和乙酸含量增加率减小。

如本试验所述，将可溶性糖多的材料(有时青贮饲料开封后谷粒部分作为糖分残留)制成青贮饲料时，以乳酸菌为首的兼性厌氧性微生物的活动在青贮饲料开封后仍可以持续一段时间。乳酸由同型和异型乳酸菌生成，乙酸由异型乳酸菌和需氧性微生物生成。另外，青贮饲料开封后，酵母的活动受到诱导，需氧性微生物开始活动。其中也可以由酵母生成乙酸。

即，由本试验的结果可见：随着母液添加比率提高，以乳酸菌为首的兼性厌氧性菌、酵母以及需氧性微生物的活动受到抑制。

对于丁酸菌，在需氧状态下，在所有试验区均受到抑制。

实施例 6: 通过青贮饲料开封后的二次发酵(需氧性腐败)进行的青贮饲料品质评价试验(二次发酵过程中霉菌菌落的消长)

按照 80:20-20:80 的混合比例(重量比)制备母液与糖蜜的混合液，进行添加，使之相对于材料大麦整株的鲜重为 3%，将其装入 1 L 瓶中(装瓶密度 500 g FW/L)，进行大麦整株装瓶青贮试验。

制备未添加母液的青贮饲料作为对照区。混合比和简称的具体内容如表 7 所示。

表 7

母液与糖蜜的混合液的混合比和简称

简称	母液 80	母液 60	母液 50	母液 40	母液 20
母液：糖蜜	80：20	60：40	50：50	40：60	20：80

- 5 为了评价大麦整株装瓶青贮试验中所得的青贮饲料微生物的生长状况，向 20 g 刚开封后、2 天后和 6 天后取样的青贮饲料样品中加入 200 ml 蒸馏水，用混合器搅拌 1 分钟，然后用 2 片纱布过滤，使用所得滤液，在营养琼脂培养基 (5 g 蛋白胨、3 g 肉膏、15 g 琼脂、1000 ml 蒸馏水、pH 6.8) 中进行培养。每天计数霉菌菌落数，以平衡后的数目作为霉菌菌落测定数。结果如表 8 所示。
- 10 由表 8 所示结果可知：母液混合比例为 50%或以上时，开封 6 天之内未检测出霉菌菌落。

表 8

青贮饲料开封后的霉菌菌落数的结果

15 单位：c. f. u. g⁻¹FW

试验区	对照区	母液 80	母液 60	母液 50	母液 40	母液 20
开封日	7×10 ⁷	n. d	n. d	n. d	n. d ^{*1}	1×10 ⁸
2 天后	7×10 ⁷	n. d	n. d	n. d	n. d	n. d
6 天后	7×10 ⁷	n. d	n. d	n. d	3×10 ⁹	7×10 ⁷

- *1: 未检出
- 这显示：通过添加母液，与二次发酵有关的霉菌的生长受到抑制。
- 实施例 7：大麦整株青贮饲料的瘤胃原位消化率的改善效果试验
- 按照 80:20-20:80 的混合比例 (重量比) 制备母液与糖蜜的混合液，进行添加，使之相对于材料大麦整株的鲜重为 3%，将其装入 1 L 瓶中 (装瓶密度 500 g FW/L)，制备大麦整株装瓶青贮饲料。
- 20 制备未添加母液的青贮饲料作为对照区。混合比和简称的具体内容如表 9 所示。

表 9

母液与糖蜜的混合液的混合比和简称

简称	母液 80	母液 60	母液 50	母液 40	母液 20
母液：糖蜜	80：20	60：40	50：50	40：60	20：80

首先，对于各添加母液处理区所制备的青贮饲料，在各大麦整株
5 整体中除去消化率好的谷粒部分，对难消化性(纤维成分多)的茎叶部分的中性洗涤纤维(NDF*¹)含量进行调查。对于瘤胃原位消化率*²，在装有瘤胃瘘管的牛的第一胃内浸泡 24 小时，调查干物消失率和 NDF 消化率。结果如图 9 和 10 所示。

*1：是从中性洗涤纤维、中性洗涤处理残余物中除去灰分所得的
10 纤维成分，主要含有构成细胞壁的纤维素、半纤维素、木素。

*2：使用实际的动物测定消化率的实验方法之一。

首先，添加母液处理区与对照区相比，确认在青贮饲料贮藏中大
麦整株茎叶部分的纤维成分含量显著降低。这从图 9 中即可明确：中
性洗涤纤维(NDF)随着母液的添加而减少。

15 还可确认干物消化率和 NDF 消化率的改善效果(参照图 10)。

粗饲料原料的纤维素、半纤维素与木素结合，形成难消化性矩阵
结构，难以被反刍胃内微生物利用。即，这些纤维尚未被用作反刍家
畜的能量源即被排泄掉。但是，通过在 1-10 重量%的范围内向粗饲料
中添加母液，可在电子显微镜下观察到引起纤维结构明显崩解。这对
20 消化率的显著改善极有贡献。

实施例 8：意大利黑麦草装瓶青贮试验

本实施例中所使用的氨基酸发酵副生液是

① 用硫酸将谷氨酸发酵液的 pH 调节至等电点，将析出的该氨基
酸进行固液分离，将此时所得母液用氨调节至 pH 为 5 左右，在进行脱
25 盐浓缩时产生的 pH 4.7、总氮量为 6.2 重量%(其中氨性氮为 4.3 重量
%)的谷氨酸发酵副生液(以下简称为“Glu 母液”);

② 用硫酸将赖氨酸发酵液调节至 pH 为 3 左右，然后使该氨基酸
吸附于强酸性阳离子交换树脂，流出液通过离心分离分成菌体和上清
两组分。将上清用氢氧化钠溶液调节至 pH 为 5 左右，将脱盐浓缩时产
30 生的液体与上述菌体混合得到的 pH 4.2、总氮量为 5.9 重量%(其中氨

性氮为 4.7 重量%)的赖氨酸发酵副生液(以下简称为“Lys 母液”);
以及

③ 实施例 1-7 中使用的苯丙氨酸发酵副生液(以下简称为“Phe 母液”)。

5 分别添加这些 Glu 母液、Lys 母液和 Phe 母液,使之相对于材料意大利黑麦草鲜重为 3%,将其装入 1 L 瓶中(装瓶密度 760 g FW/L),实施青贮试验。制备未添加母液的青贮饲料作为对照区。

10 制备青贮饲料后第 40 天开封,取样,加入 10 倍量的蒸馏水,用混合器粉碎,用纱布过滤。将滤液在 15,000 rpm、5 分钟、5℃的条件下离心分离。在上清中添加 2 倍量的 6%高氯酸并搅拌,再以同样的条件进行离心分离。将上清用 0.45 μm 滤器过滤,测定 pH,并通过液相色谱法测定挥发性脂肪酸。

图 11 分别表示对照区和添加 Glu 母液、Lys 母液和 Phe 母液处理区青贮饲料的 pH。

15 图 12 分别表示对照区和添加 Glu 母液、Lys 母液和 Phe 母液处理区的总有机酸浓度。

图 13 分别表示对照区和添加 Glu 母液、Lys 母液和 Phe 母液处理区中乳酸、乙酸占总有机酸的比例。

20 由图 11、12、13 可知:总有机酸生成量和乳酸占总有机酸的比例在添加 Glu 母液、Lys 母液和 Phe 母液处理区都比对照区高。这显示这些母液有促进青贮饲料乳酸发酵,显著改善青贮饲料品质的效果。

实施例 9: 甘薯淀粉渣装袋青贮试验

使用以日本鹿儿岛宫崎县为中心生产的糖化原料甘薯淀粉的副产品——甘薯淀粉渣制备青贮饲料。

25 本实施例中使用的甘薯淀粉渣的一般特征如表 10 所示。

表 10

甘薯淀粉渣的一般特征

水分%	pH	粗蛋白%DM* ¹	粗纤维%DM	粗灰分%DM
72	9.1	1.8	18.6	8.7

*1: 干物重

30 添加麦糠,使其为材料淀粉渣鲜重的 10%,调节水分。向其中添加 Phe 母液,使其为 5%。装入聚乙烯青贮袋中 20 kg,抽真空,密封,

实施青贮试验。另外，设置处理区和未添加母液的对照区，制备青贮饲料，其中所述处理区是将乳酸菌添加到已调节水分的材料中，使之成为 10^5 c.f.u/gFW。

各试验区和对照区如表 11 所示。

5

表 11

	对照区 1	对照区 2	处理区 1	处理区 2
母液	未添加	未添加	添加	添加
乳酸菌	未添加	添加	未添加	添加

制备青贮饲料后约第 40 天开封，取样，加入 10 倍量的蒸馏水，用混合器粉碎，用纱布过滤。将滤液在 15,000 rpm、5 分钟、5℃ 的条件下进行离心分离。在上清中添加 2 倍量的 6%高氯酸并搅拌，再以同样的条件进行离心分离。将上清用 0.45 μ m 滤器过滤，测定 pH，并通过液相色谱法测定有机酸。其结果如图 14 和 15 所示。

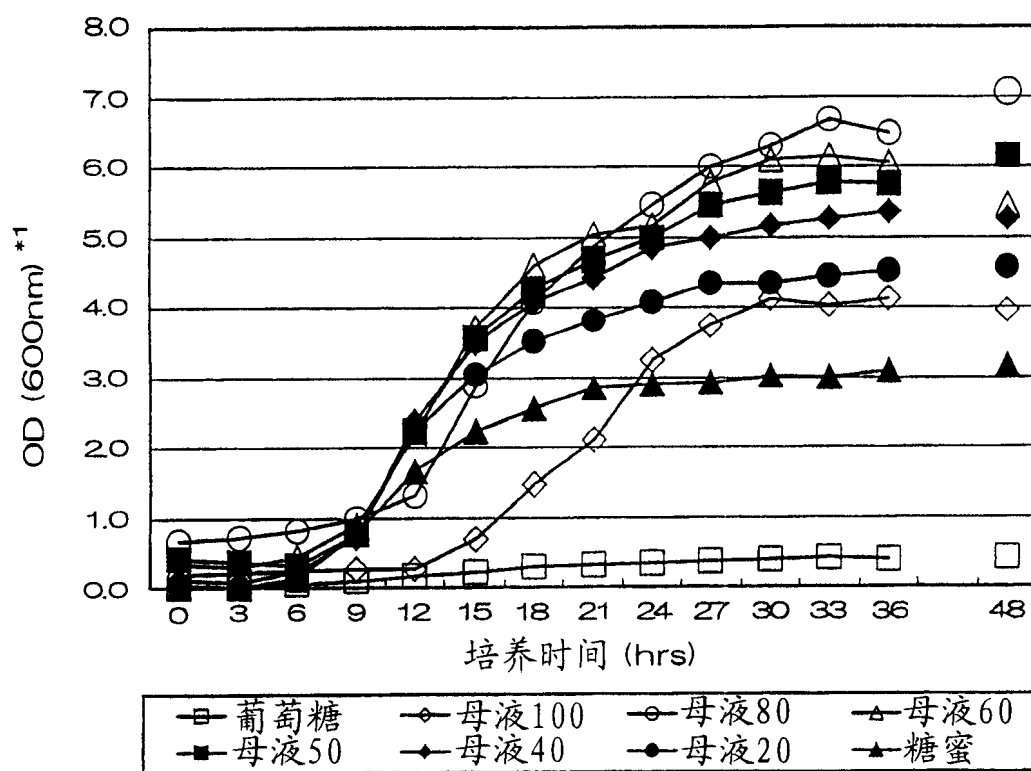
由图 14 可知，在所有的区中，pH 低至 4 或以下，是良好的青贮饲料。但是由图 15 可知，处理区 1 和处理区 2 之间，乳酸占总有机酸的比例大致相等，按照对照区 1、对照区 2、处理区 2 和处理区 1 的顺序依次增高。这显示，不仅添加的乳酸菌有效果，而且添加的母液具有促进青贮饲料乳酸发酵，显著改善青贮饲料品质的效果。

工业实用性

本发明通过在青贮饲料原料中添加氨基酸发酵副生液，可达到促进青贮饲料发酵中乳酸菌发酵的效果以及促进原料中顽固纤维结构崩解，即，促进饲料原料中来自木素的纤维素和半纤维素分离，由此可制备具有长期保存性，高乳酸含量且高可消化性、氮成分量也优异的青贮饲料。另外，本发明可有效利用氨基酸发酵副生液中的氮源。

25

使用代表性的青贮饲料乳酸菌进行的分离菌培养试验结果
植物乳杆菌 (*Lactobacillus Plantarum*)



*1 吸光度

图 1

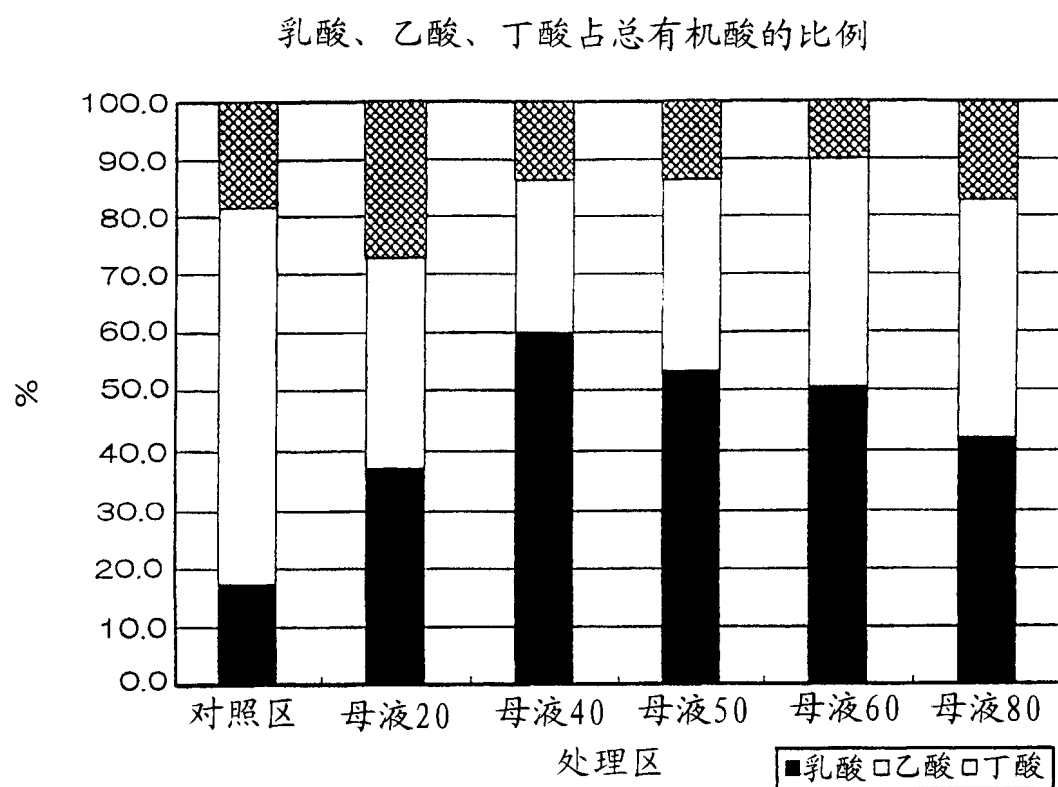


图 2

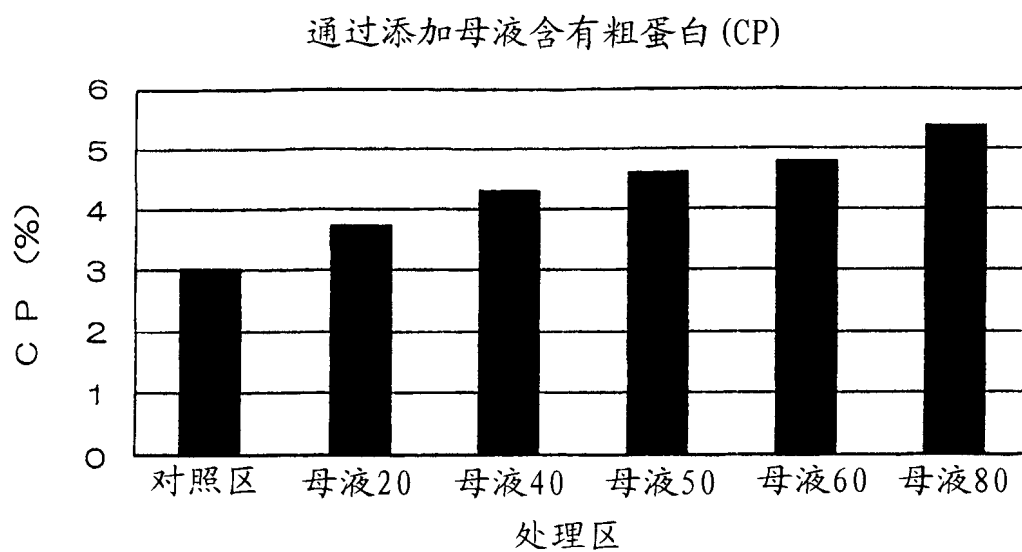
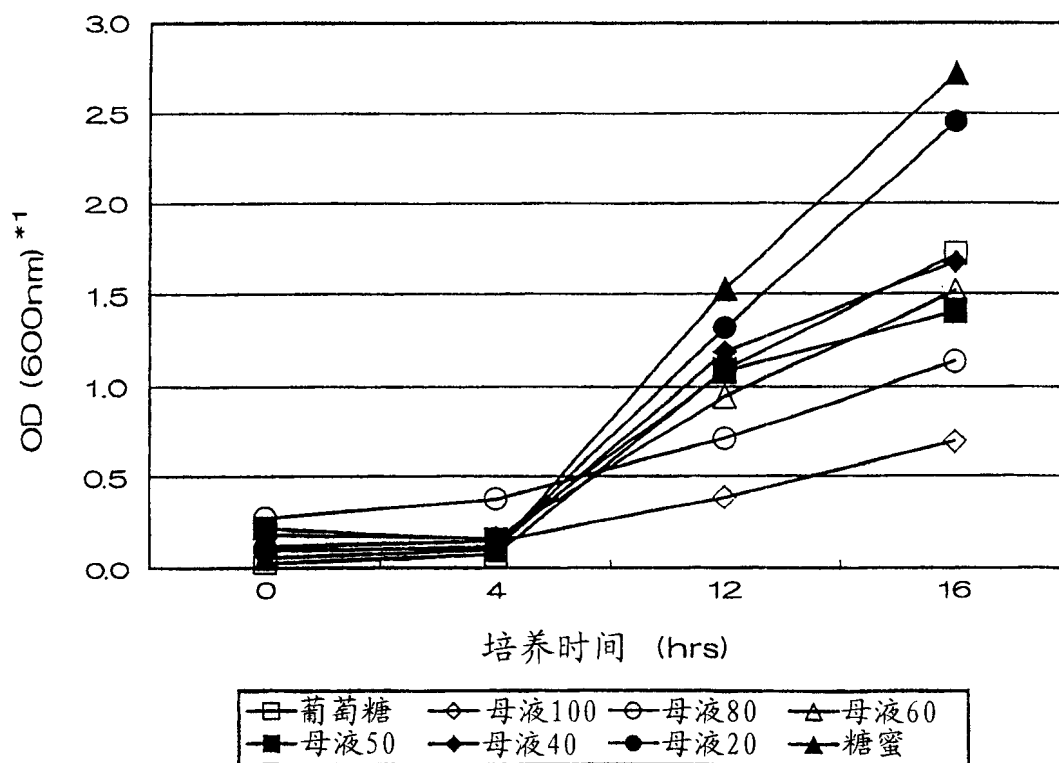


图 3

由青贮饲料分离的酵母的培养试验结果
青贮饲料酵母



*1 吸光度

图 4

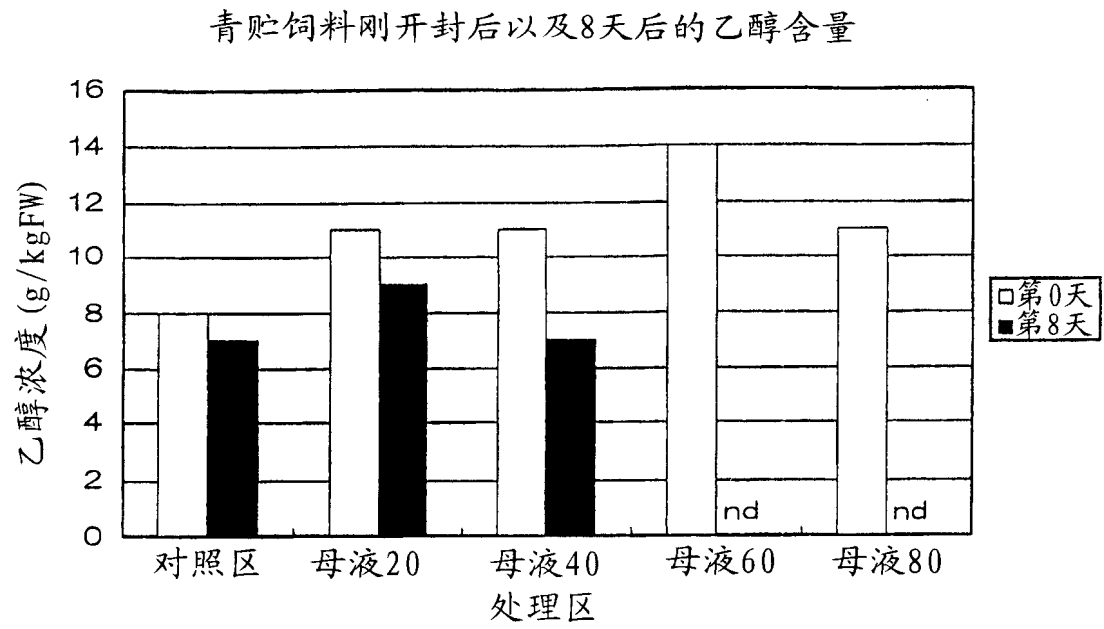


图 5

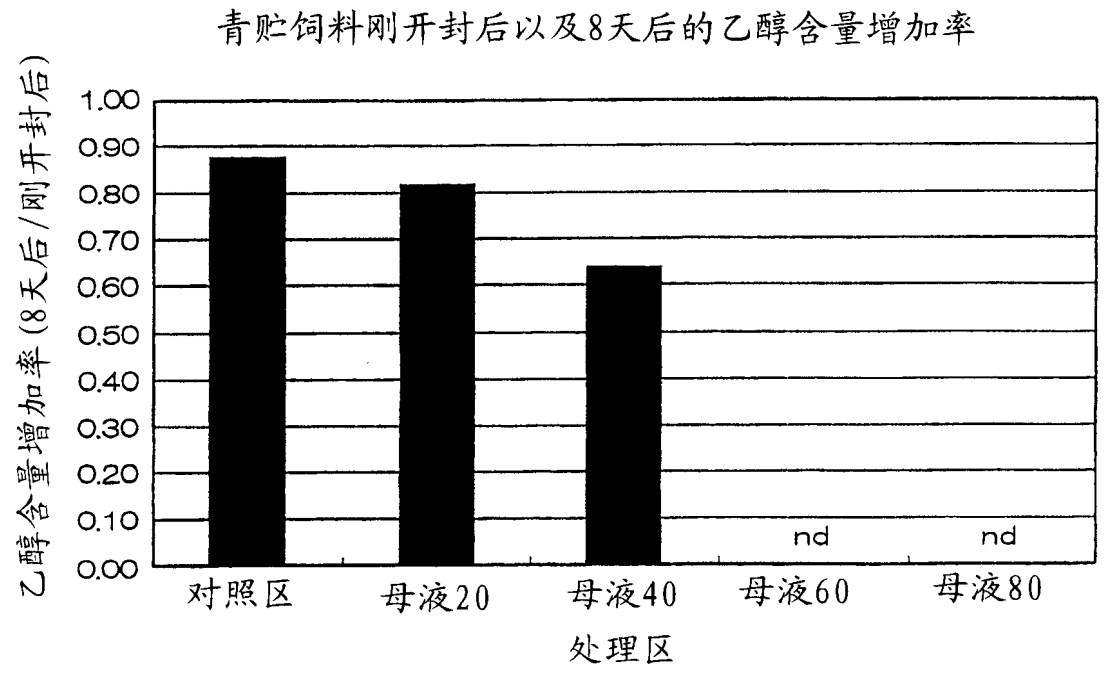


图 6

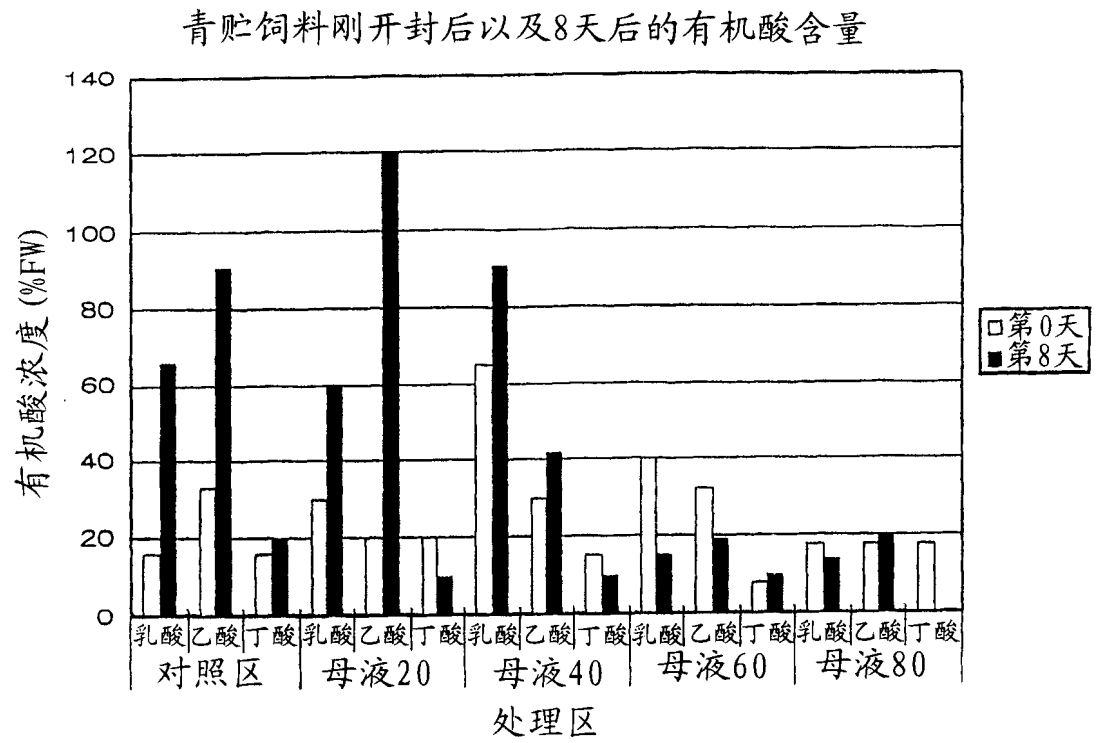


图 7

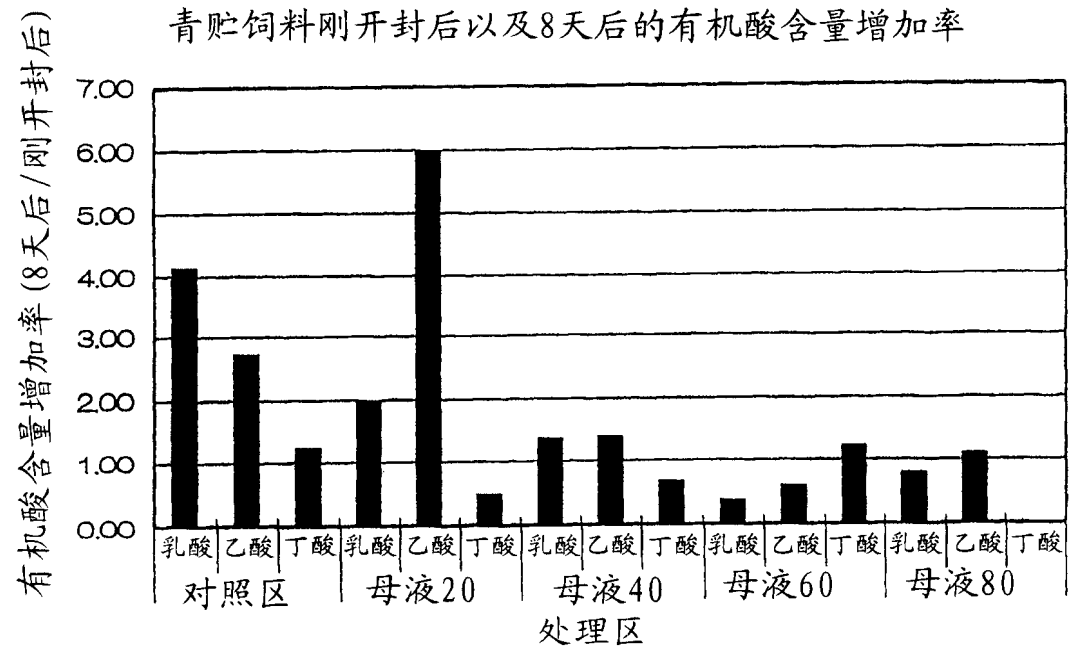


图 8

各试验区青贮饲料茎叶部分的NDF含量

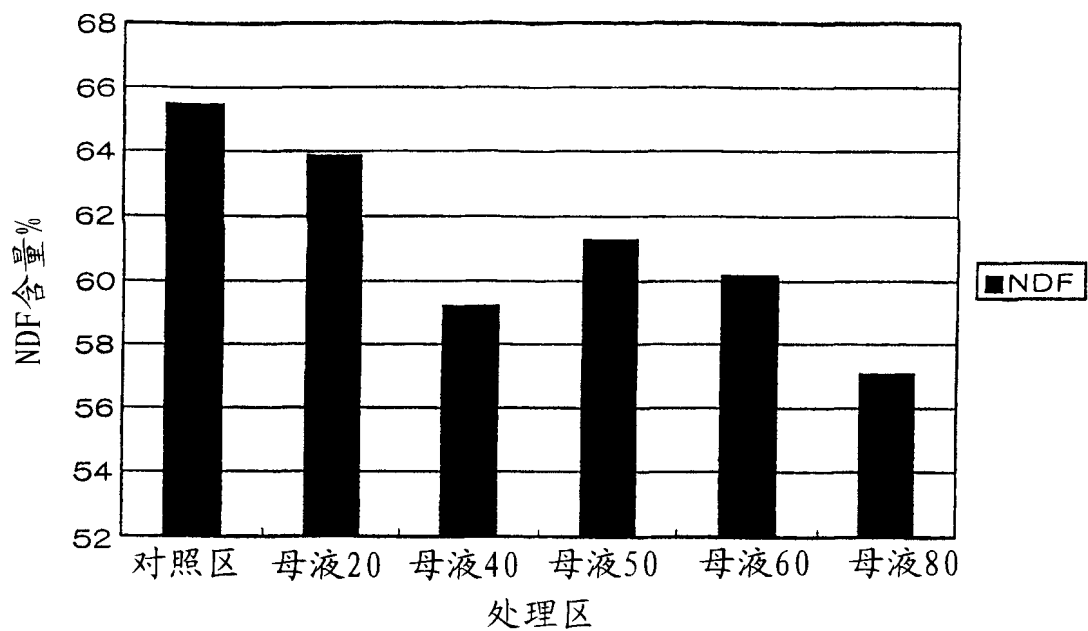


图 9

在第一胃内浸泡24小时后的原位消化率

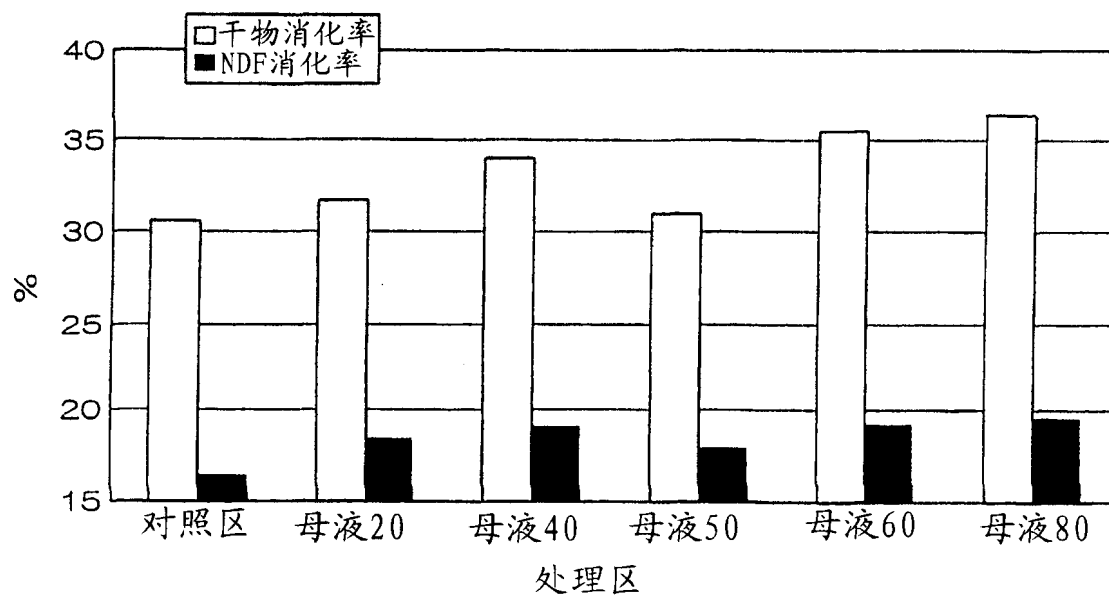


图 10

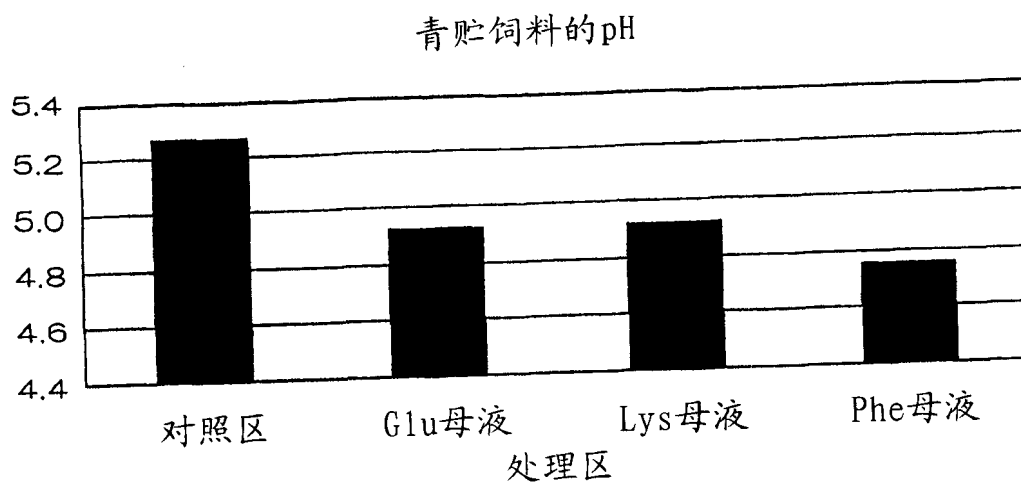


图 11

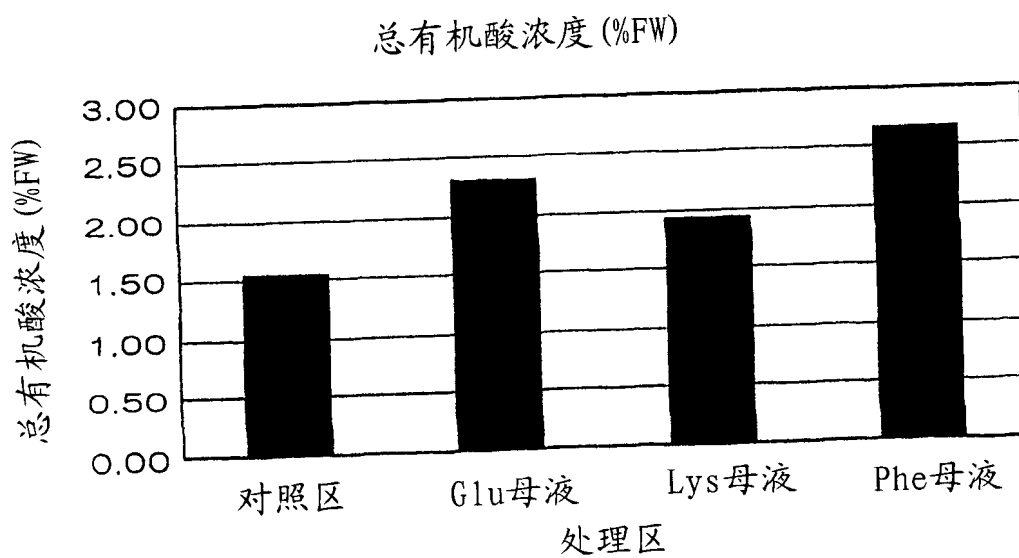


图 12

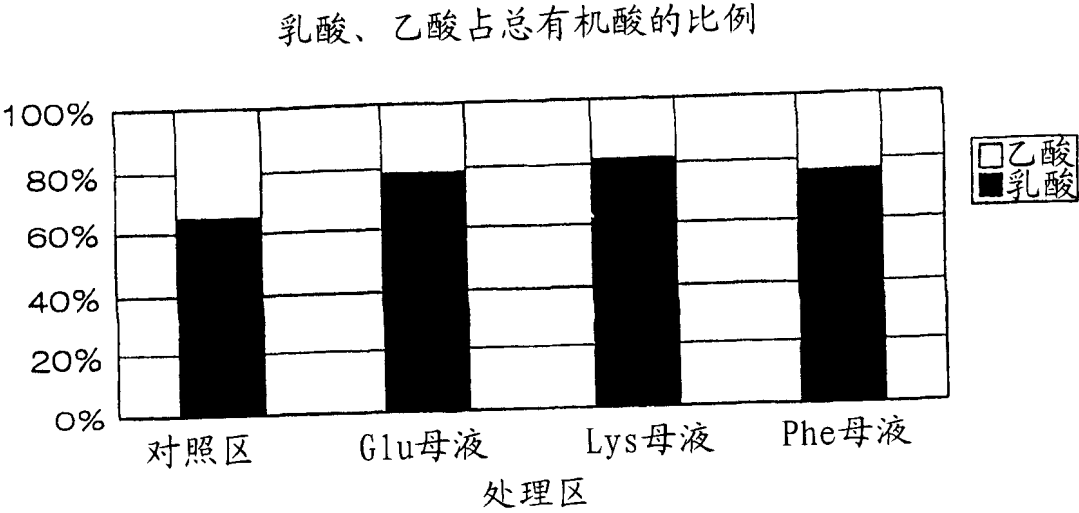


图 13

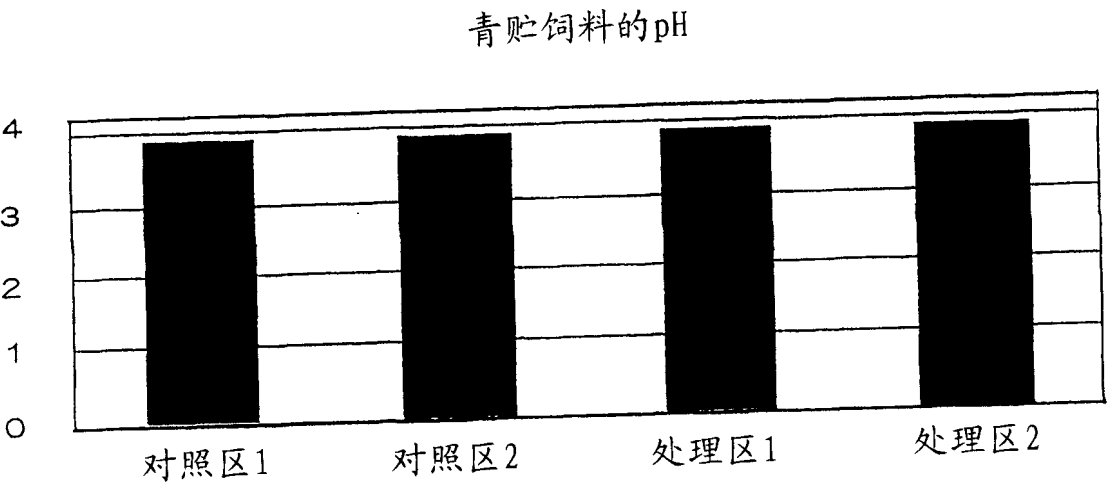


图 14

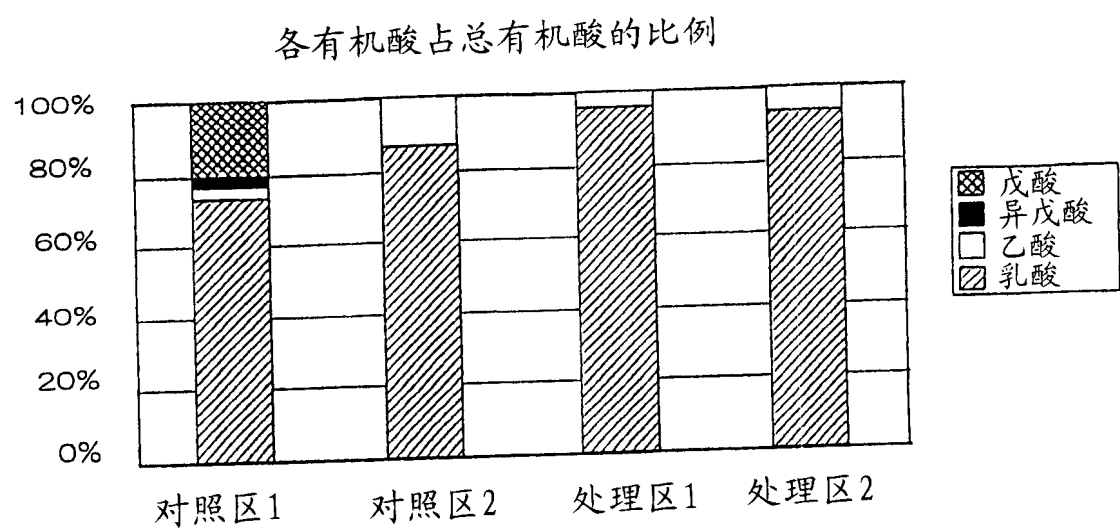


图 15