

球磨预处理和固态发酵对玉米秸秆饲用品质的影响

王璐璐^{1,2,3,4}, 蔡国林^{1,2,4}, 朱德伟^{1,2,3}, 陆健^{1,2,3,4*}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122; 4. 宿迁市江南大学产业技术研究院, 江苏 宿迁 223800)

摘要: 玉米秸秆经球磨预处理后物理空间结构和化学物质结构改变, 更容易被相应的酶降解, 进而被微生物利用, 其饲用品质提高, 从而可能替代饲料中的部分粮食。研究表明, 球磨预处理后的玉米秸秆粒径大小均匀, 约 90% 的颗粒集中在 10~100 μm , 酸性洗涤纤维下降 3.5%, 可溶性总糖提高 2.0 倍, 对其单糖组成分析发现: 可溶性总糖的增加主要来自半纤维素和纤维素的分子断裂。用木聚糖酶和纤维素酶酶解球磨预处理后的玉米秸秆, 可溶性总糖和还原糖含量比酶解前分别提高了 3.3 倍和 9.7 倍, 球磨预处理后酶解效率大大提高。球磨预处理的玉米秸秆经固态酶解、发酵后, 总酸质量分数达 26.3 mg/g, 纤维素和半纤维素质量分数分别下降 9.1% 和 4.9%, 乳酸菌含量达到 1.5×10^9 CFU/g, 饲用品质显著提高。

关键词: 玉米秸秆; 球磨预处理; 饲用品质; 固态发酵

中图分类号: Q 815 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2014)11—1148—06

Effect of Ball Milling Pretreatment and Solid State Fermentation on the Feed Quality of Corn Straw

WANG Lulu^{1,2,3,4}, CAI Guolin^{1,2,4}, ZHU Dewei^{1,2,3}, LU Jian^{1,2,3,4*}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 4. Industrial Technology Research Institute of Jiangnan University in Suqian, Suqian 223800, China)

Abstract: Ball milling pretreatment can be used to change the physical and chemical structure of corn straw, making it much easier to be degraded by enzymes, which will enhance the microorganism utilization rate to improve its feed quality. This study indicated that the particle size of corn straw after ball milling mainly (90%) distributed in the range of 10~100 μm and ball mill crushed corn straw had a 3.5% decrease in Acid Detergent Fiber (ADF) content and a 200% increase in soluble sugar content due to the breaking of hemicellulose chain and cellulose chain. The total content of soluble sugar and reducing sugar of ball milling corn straw hydrolysed by

收稿日期: 2013-11-20

基金项目: 国家 973 计划项目(2013CB733602); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(JUSRP51302A); 江苏高校优势学科建设工程项目。

* 通信作者: 陆健(1968—), 男, 江苏太仓人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事啤酒酿造微生物与酶技术、大宗饲料原料的生物技术处理方面的研究。E-mail: jlu@jiangnan.edu.cn

xylanase and cellulase increased by 3.3 fold and 9.7 fold than that without treatment, separately. The total acid content reached 26.3 mg/g and the lactic acid bacteria population was about 1.5×10^9 CFU/g after corn straw solid state fermentation. Furthermore, the cellulose and hemicellulose separately decreased by 9.1 and 4.9 percentage points than before, which could significantly improve the quality of the feed.

Keywords: corn straw, ball milling pretreatment, feed quality, solid state fermentation

中国是一个农业大国,农作物秸秆资源十分丰富,年产量达 8 亿多 t,其中玉米秸秆最多,达到 3 亿 t。秸秆作为可再生资源,具有巨大的开发利用潜力。但是,在我国广大农村地区,秸秆废弃焚烧现象十分严重,这不仅造成了资源的巨大浪费,破坏生态平衡,而且违背了我国可持续发展的理念。因此,农作物秸秆资源利用技术的开发已成为生态农业和可持续发展的一个重大课题,世界上许多国家都在开展这方面的研究,如利用秸秆生产燃料乙醇、秸秆直燃发电、秸秆机械化还田以及制备秸秆饲料等^[1]。

玉米秸秆主要由纤维素(31%~40%),半纤维素(35%~48%)和木质素(15%~25%)三种物质组成,其中纤维素和半纤维素都是潜在的可利用资源。但是,秸秆的物理-化学结构和组成因子阻碍了玉米秸秆的有效利用,纤维素的结晶度、可及表面积、木质素的屏障作用、生物颗粒的不均匀性以及纤维素和半纤维素的缠绕等因素都不利于酶解反应的进行^[2-3]。目前,研究最为广泛的是采用蒸汽、氨化、稀酸等预处理,结合酶水解和发酵的多级加工过程可以将其转化为生物燃料^[4]。通过预处理改变或移除阻碍水解的因素,使得半纤维素和纤维素的对酶的敏感性提高,从而提高可还原糖的含量,提高玉米秸秆的生物利用度^[5]。随着机械行业的科技进步和酶制剂在饲料的广泛应用,通过机械预处理玉米秸秆,进而通过纤维素酶和半纤维素酶酶解和有益微生物转化,部分替代饲料中的粮食逐渐成为了可能^[6]。

作者通过球磨预处理玉米秸秆,研究球磨预处理对玉米秸秆粒径、化学结构成分、酶降解效率和乳酸菌固态发酵的影响,降低抗营养成分,提升营养价值,提高玉米秸秆的饲用品质,以期为实现处理后的玉米秸秆最终替代饲料中玉米或小麦等粮食提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

粗玉米秸秆:上海源耀生物科技有限公司提供;纤维素酶(Validase TRL)和木聚糖酶(BAKEZYME BXP 5001 BG):由帝斯曼(中国)有限公司提供。球磨机:长沙天创粉末技术有限公司。

乳酸片球菌 R30:江南大学粮食发酵工程实验室酿造酒实验室保藏,可利用木糖,纤维二糖等,且不存在葡萄糖阻遏效应。

1.2 玉米秸秆的预处理

分别取经干燥,切碎的粗玉米秸秆样品(颗粒大小约 0.5 cm)30 g,按以下方式分别进行机械预处理:锤式粉碎(5 min)和球磨(5 min)。

1.3 粒径分布

粒径分布的测定:MICROTRAC 激光粒度分析仪测定。

1.4 中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)测定

NDF 含量的测定:按照 GB/T 20806-2006 饲料中中性洗涤纤维(NDF)的测定^[7]。ADF 含量的测定:按照 NY/T 1459-2007 饲料中酸性洗涤纤维(ADF)的测定^[8]。

1.5 还原糖和可溶性总糖测定

1.5.1 样品前处理 将 2 g 玉米秸秆样品加入 40 mL 蒸馏水中,调节 pH 为中性,在 80 °C 水浴中保温 30 min,使可溶性糖浸出,离心取上清液。

1.5.2 还原糖测定 采用 DNS 比色法^[9]。

1.5.3 还原糖的 HPLC 测定 样品经前处理后,取上清液过 0.45 μm 滤膜,采用高效液相色谱法(HPLC)测其还原糖。色谱柱:Aminex HPX-87H Ion Exclusion column;检测器:示差折光检测器;流动相:5 mmol/L H₂SO₄;流速:0.4 mL/min;柱温:35 °C。

1.5.4 总糖测定 采用硫酸-苯酚法测定总糖^[10]。

1.6 单糖组成的测定

可溶性总糖经酸水解后,采用高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测(HPAEC-PAD)单糖组成。取 1 mL 玉米秸秆前处理后的上清液和 4 mL、4 mol/L HCl 于沸水浴中水解 1 h, 冷却至室温后加 4 mL、4 mol/L NaOH 中和,离心,过 0.45 μ m 滤膜,用高效阴离子交换色谱分析单糖含量。色谱柱:CarboPac PA20;检测器:脉冲安培检测器;流动相 A:水;流动相 B:250 mmol/L NaOH; 流动相 C:1 mol/L NaAc; 流速:0.5 mL/min;梯度洗脱条件:0~21.1 min,98.2% A,1.8% B;21.1~30 min,93.2% A,1.8% B,5% C; 30~30.1 min,78.2% A,1.8% B,20% C;30.1~50 min,20% A,80% B。

1.7 酶解

用 pH 5.5 的柠檬酸盐缓冲液配制木聚糖酶和纤维素酶混合酶液,酶添加量分别为 400 U 木聚糖酶/g 秸秆和 25 U 纤维素酶/g 秸秆,料液比(m/m)为 1:20,于 40 $^{\circ}$ C 酶解处理 1 h。

1.8 固态发酵

将秸秆样品装入广口瓶 105 $^{\circ}$ C 灭菌 10 min,冷却后接种 10% 乳酸菌,并添加木聚糖酶以及纤维素酶,酶添加量分别为 400 U 木聚糖酶/g 秸秆和 25 U 纤维素酶/g 秸秆,料水比(m/m)为 1:1.2,搅拌均匀后于 35 $^{\circ}$ C 发酵 48 h,60 $^{\circ}$ C 烘干,得到玉米秸秆发酵饲料。

1.9 数据处理

所有实验均测定三次,取平均值,采用 Excel 软件进行数据分析并用 Origin 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 机械预处理对玉米秸秆粒径分布变化的影响

干燥、切碎的粗玉米秸秆颗粒大小约 0.5 cm,经不同的机械预处理后,颗粒尺寸减小达到微米级,其粒径分布见图 1。从图 1 可以看出,玉米秸秆经机械预处理后粒径明显变小,经锤式粉碎的玉米秸秆颗粒大小集中分布在 150~1 000 μ m 之间。球磨处理后的玉米秸秆其粒径较小且最为均匀,约 90% 集中在 10~100 μ m 之间,由于细小颗粒具有聚集性,因此测得的球磨颗粒可能比实际值偏大^[11]。通过机械预处理后,玉米秸秆的粒径减小、比表面积增大、酶的可及性增加,理论上可以提高酶水解的

效率。同时,由于粒径减小,玉米秸秆对消化道的刺激降低,适口性提高。

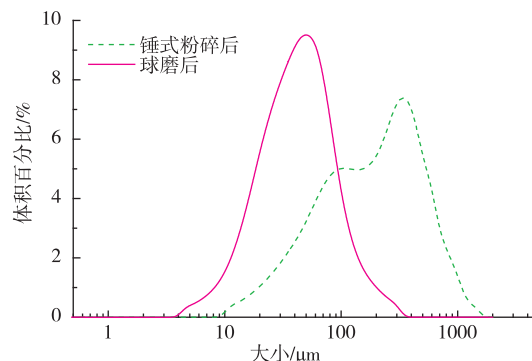


图 1 不同机械预处理方式下玉米秸秆样品的粒径分布
Fig. 1 Particle size distributions of corn straw samples milled with different types of mills

2.2 机械预处理对玉米秸秆化学结构的影响

机械处理对玉米秸秆 NDF, ADF 和可溶性总糖质量分数的影响见图 2。通过比较图 2 中不同机械处理方式下 NDF 和 ADF 质量分数的变化发现,锤式粉碎秸秆 NDF 和 ADF 质量分数基本不变,而球磨处理的玉米秸秆 NDF 和 ADF 质量分数均降低, NDF 质量分数下降 1.3%, ADF 质量分数下降 3.5%, 同时其可溶性总糖质量分数增加 1.6%, 小于 ADF 的减小量。ADF 质量分数的下降可能是由于玉米秸秆经球磨处理后,纤维素分子断裂,结晶结构破坏,使得原先因包含在纤维素分子链间而未被酸性洗涤剂水解的半纤维素暴露,进而在酸性条件下充分溶解;同时推测这些暴露的半纤维素在粉碎过程中部分因受到机械力作用被剪切,使得单糖或寡聚糖从多糖分子链上脱落,从而导致可溶性总糖增加。

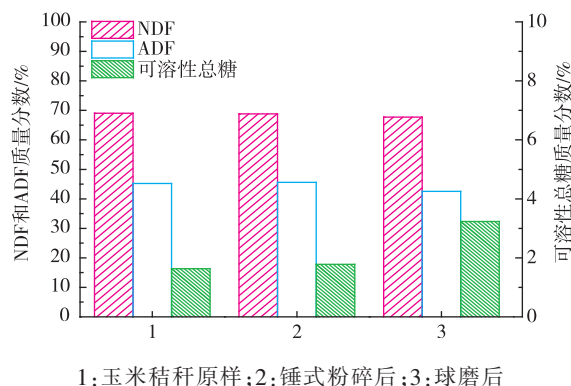


图 2 不同预处理方式对玉米秸秆样品中 NDF、ADF 和水溶性总糖质量分数变化的影响
Fig. 2 Effect of different treatment on the NDF, ADF and total soluble sugar content of corn straw

为验证以上推论,对不同机械处理玉米秸秆可溶性总糖的单糖组成进行分析,结果见表1。从表1可以看出,各单糖组分质量分数随玉米秸秆粒径的减小而升高,且葡萄糖的增加量仅占总糖增加量的43%。由于半纤维素的主链主要由三类聚合物组成:即聚木糖类,聚葡萄糖-甘露糖类和聚半乳糖葡萄糖甘露糖类^[12],而构成这些聚合物的单体主要有木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖,4-O-甲基-D-葡萄糖醛酸基,半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸等,以及少量的鼠李糖,岩藻糖等^[13]。因此根据表1的单糖组成和变化可以进一步证明:玉米秸秆经球磨处理后增加的可溶性糖主要来自于半纤维素和纤维素的分子断裂。

表1 可溶性总糖的单糖组成

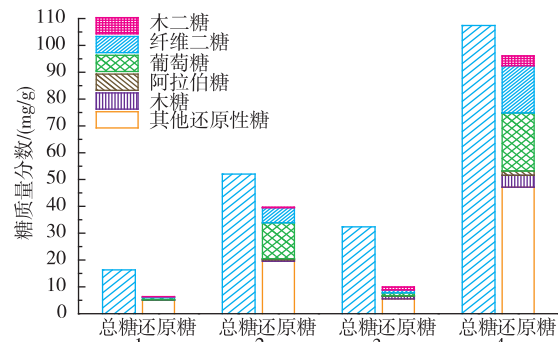
Table 1 Monose composition of the total soluble sugar

单糖	原样	锤式粉碎	球磨
氨基葡萄糖质量分数/(mg/g)	-	-	0.188
鼠李糖质量分数/(mg/g)	0.347	0.417	0.737
阿拉伯糖质量分数/(mg/g)	1.62	1.88	2.56
氨基半乳糖质量分数/(mg/g)	0.184	0.193	0.615
半乳糖质量分数/(mg/g)	3.24	3.35	6.63
葡萄糖质量分数/(mg/g)	6.60	7.78	13.7
木糖质量分数/(mg/g)	1.96	1.70	4.66
甘露糖质量分数/(mg/g)	1.94	1.79	3.27
合计/(mg/g)	15.9	17.1	32.1

2.3 球磨预处理对玉米秸秆纤维素酶和木聚糖酶酶解效率的影响

图3为用木聚糖酶和纤维素酶分别处理球磨前后玉米秸秆的可溶性总糖及部分还原糖变化情况。玉米秸秆经酶解处理后,其可溶性总糖和还原糖质量分数分别增加3.3倍和9.7倍。从2.2的分析可知,玉米秸秆经机械处理后,增加的可溶性总糖主要来自于半纤维素,再通过图3比较酶解前后糖组成变化情况可以发现,酶解后玉米秸秆增加的可溶性糖基本都为还原糖,其中葡萄糖和纤维二糖增加量较木糖、阿拉伯糖和木二糖的增加量大,可以推测纤维素的降解量大于半纤维素。纤维素酶酶解效果好是因为球磨预处理后的玉米秸秆木质素剥离,纤维素在力的作用下断裂,分为未被破坏的结晶区即抗水解部分和非结晶区即易水解部分^[14]。显然,粉碎后的玉米秸秆其纤维素的结晶度越低,酶解效越高。玉米秸秆在球磨过程中,受到挤压力,剪

切力和冲击力等多重作用力,纤维素分子间氢键断裂,无定形的结晶结构被破坏,同时由于玉米秸秆颗粒粒径减小,可接触及易受酶解的面积增加,因此酶解作用效果更好^[15],而机械处理后部分半纤维素分子仍包裹在纤维素中,导致木聚糖酶解作用效果相对较差;同时,半纤维素的支链较多,由于侧链取代物会影响木聚糖酶的活性,因此木聚糖酶酶解效果也会受到影响^[16]。



1: 玉米秸秆;2: 酶解后玉米秸秆;3: 球磨后秸秆;4: 酶解后球磨秸秆

图3 球磨预处理对玉米秸秆样品酶解后可溶性总糖及还原糖释放的影响

Fig. 3 Effect of ball milling pretreatment on the release of the total soluble sugar and total soluble sugar by enzymes of corn straw

2.4 微生物发酵对球磨预处理秸秆饲用品质提升的影响

利用乳酸片球菌 R30 对玉米秸秆原样以及球磨玉米秸秆进行固态发酵,比较发酵前后玉米秸秆 ADF 和 NDF 含量的变化情况,结果见表2。由于 ADF 包含木质素和纤维素,NDF 包含木质素,纤维素和半纤维素^[17],因此根据表2可知,球磨处理的玉米秸秆经发酵后纤维素质量分数下降9.1%,半纤维素质量分数下降4.9%,而未经球磨处理的玉米秸秆发酵后纤维素、半纤维素质量分数分别下降6.5%和3.9%。作为细胞壁的主要成分,纤维质量分数越低越有利于提高胞内营养物质的利用率,降低单胃动物在消化过程中的能量消耗。

图4为球磨玉米秸秆经固态发酵后其可溶性总糖及部分糖组分质量分数的变化情况,结合图3分析得出,秸秆在木聚糖酶和纤维素酶的共同作用下,固态发酵过程中释放出木糖,葡萄糖和纤维二糖等单糖和二糖,可利用的代谢糖质量分数增加,

这些糖类能够直接进入动物代谢循环中,从而显著提高玉米秸秆的代谢能值。同时,部分糖类在发酵过程中可被有益微生物用于生长代谢,产生乳酸等有益代谢产物。

表 2 发酵前后玉米秸秆 ADF 及 NDF 质量分数变化
Table 2 Changes of ADF and NDF content of the corn straw after fermentation

成分	洗涤纤维质量分数/%			
	玉米秸秆原样	秸秆原样发酵后	球磨秸秆发酵前	球磨秸秆发酵后
ADF	45.2	38.7	42.5	33.4
NDF	69.0	58.6	67.7	53.7

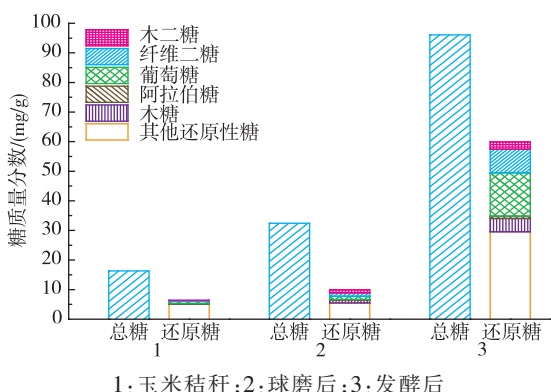


图 4 发酵后可溶性糖及部分糖质量分数的变化
Fig. 4 Changes of soluble sugar content and some simple sugar content after fermentation

球磨处理前后的玉米秸秆经固态发酵后其产酸情况见图 5。发酵 48 h 后,玉米秸秆 pH 值下降,总酸质量分数升高,未经球磨处理的玉米秸秆原样发酵后总酸质量分数为 13.9 mg/g,发酵球磨玉米秸秆总酸质量分数达到 26.3 mg/g,是前者总酸质量分数的 1.9 倍,而如果直接采用大小为 2~3 cm 的玉米秸秆接种乳酸菌进行青贮发酵,要达到相近的总酸浓度发酵周期长达 20 d^[18]。由于乳酸片球菌 R30 在发酵过程中可利用多种糖产酸,如葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖、氨基葡萄糖和纤维二糖等,且不存在葡萄糖阻遏效应,因此,在固态发酵过程中乳酸菌可利用的碳源质量分数越高越有利于产酸。有机酸作为有益代谢产物具有广泛的功能,如延长饲料贮存期,提高饲料的适口性和采食量以及替代抗生素抑制肠道病原菌的生长^[19]。此外经发

酵的球磨玉米秸秆,其乳酸菌含量可达到 1.5×10^9 CFU/g,饲料中含有较多的活菌可以有效改善肠道中的微生物群系,从而有利于维持肠道环境的稳定以及促进营养物质的分解^[20]。

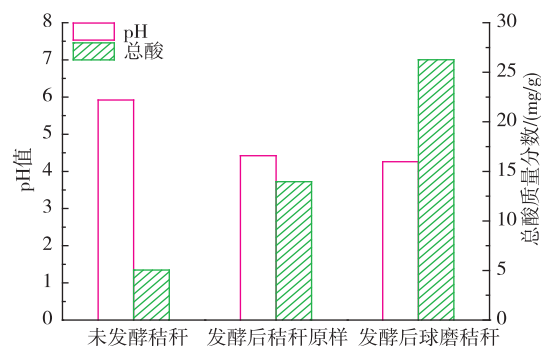


图 5 固态发酵后总酸质量分数和 pH 的变化
Fig. 5 Changes of pH value and total acid content after solid-fermentation

3 结语

玉米秸秆经机械活化后,颗粒直径变小,比表面积增大。球磨处理的玉米秸秆可溶性碳水化合物的释放量提高 2.0 倍;用纤维素酶和木聚糖酶酶解处理之后发现,球磨处理的玉米秸秆样品可溶性总糖质量分数增加 3.3 倍,还原糖质量分数增加 9.7 倍。此外,研究还发现,随着玉米秸秆粒径的减小,ADF 质量分数下降,可溶性总糖的单糖组成质量分数增加,以上结果都充分证明,玉米秸秆经球磨预处理后,不仅颗粒变小,而且其原有结构改变,木质素这一天然屏障被破坏,共价键断裂,使得原先包含在木质素中的部分纤维素和半纤维素在机械力的作用下暴露出来,易被酶降解或被直接剪切成小分子的可溶性碳水化合物,因此将球磨预处理与酶处理结合应用于乳酸菌固态发酵,有利于提升玉米秸秆营养价值,减少粗纤维等抗营养因子,增加动物可直接代谢的单糖和二糖含量,代谢能值提高;并且部分单糖和二糖在有益乳酸菌的作用下,高效转化为有益代谢产物:挥发性有机酸,提高了玉米秸秆的适口性;同时乳酸菌得到有效增殖,对动物生长,免疫性能有益,为实现发酵玉米秸秆替代部分饲料用粮提供了参考依据。

参考文献:

[1] 冯伟,黄力程,李文才. 我国农作物秸秆资源化利用的经济分析:一个理论框架[J]. 生态经济,2011(2):94-96,115.

- FENG Wei, HUANG Licheng, LI Wencai. A theoretical framework for economic analysis of crops residues utilization in China[J]. **Ecological Economy**, 2011, 2:94-96, 115. (in Chinese)
- [2] MOSIER N, WYMAN C, DALE B, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass [J]. **Bioresource Technology**, 2005, 96(6):673-686.
- [3] 孙万里, 陶文沂. 木质素与半纤维素对稻草秸秆酶解的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(1):18-22.
SUN Wanli, TAO Wenyi. Effect of lignin and hemicellulose on enzymatic hydrolysis of cellulose from rice straw [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010, 29(1):18-22. (in Chinese)
- [4] YEH A I, HUANG Y C, CHEN S H. Effect of particle size on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulose [J]. **Carbohydrate Polymers**, 2010, 79(1):192-199.
- [5] TALEBNIA F, KARAKASHEV D, ANGELIDAKI I. Production of bioethanol from wheat straw: an overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation[J]. **Bioresource Technology**, 2010, 101(13):4744-4753.
- [6] 任广跃, 毛志怀, 李栋. 秸秆饲用处理及其有效利用的研究进展[J]. 粮食与饲料工业, 2004(7):29-30.
REN Guangyue, MAO Zhihui, LI Dong. Research progress in the feed oriented treatment of straw and its effective utilization[J]. **Cereal and Feed Industry**, 2004(7):29-30. (in Chinese)
- [7] GB/T 20806-2006, 饲料中中性洗涤纤维(NDF)的测定[s].
- [8] NY/T 1459-2007, 饲料中酸性洗涤纤维(ADF)的测定[s].
- [9] 王宪泽. 生物化学实验技术原理和方法[M]. 北京:中国农业出版社, 2002.77-80.
- [10] GB/T15672-2009, 食用菌中总糖含量的测定[s].
- [11] NIEMI P, FAULDS C B, SIBAKOV J, et al. Effect of a milling pre-treatment on the enzymatic hydrolysis of carbohydrates in brewer's spent grain[J]. **Bioresource Technology**, 2012, 116:155-160.
- [12] 梁凌云. 秸秆热化学液化工工艺和机理的研究[D]. 北京:中国农业大学, 2005.
- [13] XIAO B, SUN X, SUN R. Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw[J]. **Polymer Degradation and Stability**, 2001, 74(2):307-319.
- [14] SIDIRAS D, KOUKIOS E. Acid saccharification of ball-milled straw[J]. **Biomass**, 1989, 19(4):289-306.
- [15] ZENG M, MOSIER N S, HUANG C P, et al. Microscopic examination of changes of plant cell structure in corn stover due to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis[J]. **Biotechnology and Bioengineering**, 2007, 97(2):265-278.
- [16] 陆健, 曹钰, 陈坚, 等. 木聚糖酶的产生, 性质和应用[J]. 酿酒, 2001, 28(6):30-34.
LU Jian, CAO Yu, CHEN Jian, et al. Production, properties and applications of xylanase [J]. **Liquor Making**, 2001, 28(6):30-34. (in Chinese)
- [17] LAMSAL B P, MADL R, TSAKPUNIDIS K. Comparison of feedstock pretreatment performance and its effect on soluble sugar availability[J]. **BioEnergy Research**, 2011, 4(3):193-200.
- [18] 赵辉, 易茂华, 王海吉, 等. 混合乳酸菌发酵生产玉米秸秆青贮饲料的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2010(11):52-54.
ZHAO Hui, YI Maohua, WANG Haiji, et al. A study on the production of corn straw silage by mixed lactobacillus fermentation [J]. **Cereal and Feed Industry**, 2010(11):52-54. (in Chinese)
- [19] NIBA A, BEAL J, KUDI A, et al. Potential of bacterial fermentation as a biosafe method of improving feeds for pigs and poultry [J]. **African Journal of Biotechnology**, 2009, 8(9):1758-1767.
- [20] 林标声, 何玉琴, 罗建, 等. 高活菌发酵饲料对生长肥育猪免疫功能 and 抗氧化性能的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(11):6563-6564.
LIN Biaosheng, HE Yuqin, LUO Jian, et al. Effects of highly active bacterium-fermented feed on immunity and antioxidant activity of growing-fishing pigs[J]. **Journal Anhui Agriculture Science**, 2012, 40(11):6563-6564, 6567. (in Chinese)