

# 固态发酵亚麻籽饼工艺优化及其对 1~21 日龄肉鸡生长性能、免疫及抗氧化功能的影响

郭宝珠 蔡辉益\* 刘国华 李 阳 常文环 郑爱娟 陈志敏

(中国农业科学院饲料研究所,农业农村部生物饲料重点实验室,生物饲料开发国家工程研究中心,北京 100081)

**摘要:** 本试验旨在优化固态发酵亚麻籽饼(SFFSC)的制备工艺,并研究 SFFSC 对 1~21 日龄肉鸡生长性能、免疫和抗氧化功能的影响。采用单因素试验探究发酵时间、发酵温度、料水比、接种量等发酵参数对枯草芽孢杆菌固态发酵亚麻籽饼(FSC)脱除生氰糖苷(CGs)效果的影响;在单因素试验基础上,对上述发酵参数进行正交优化;按照优化工艺进行验证和扩大试验,测定 FSC 发酵前后的 CGs 和营养成分含量。选取 1 日龄科宝肉公鸡 180 只,随机分为 3 组,每组 6 个重复,每个重复 10 只鸡。对照组饲喂基础饲料,试验组分别饲喂含 10% FSC(FSC 组)和 10% SFFSC(SFFSC 组)的试验饲料。试验期 21 d。结果显示:SFFSC 最优制备工艺为发酵时间 72 h、发酵温度 39 ℃、料水比 1.0:0.6、接种量 4%。验证和扩大试验结果与正交试验结果差异不显著( $P>0.05$ )。FSC 经固态发酵后,CGs 脱除率为 93.66%,粗蛋白质、多肽和粗脂肪含量均显著提高( $P<0.05$ )。与对照组相比,SFFSC 组 1~21 日龄肉鸡末体重(FBW)、平均日增重(ADG)、平均日采食量(ADFI)分别显著降低 6.90%、7.26%、1.99%( $P<0.05$ ),料重比(F/G)显著增加 6.15%( $P<0.05$ );FSC 组 1~21 日龄肉鸡 FBW、ADG、ADFI 分别显著降低 24.69%、21.77%、10.86%( $P<0.05$ ),F/G 显著增加 10.77%( $P<0.05$ )。与 FSC 组相比,SFFSC 组 1~21 日龄肉鸡 FBW、ADG、ADFI 分别显著提高 23.62%、18.54%、9.95%( $P<0.05$ ),F/G 显著降低 4.17%( $P<0.05$ )。与对照组相比,SFFSC 组 21 日龄肉鸡血清总蛋白(TP)、免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 G(IgG)含量差异不显著( $P>0.05$ ),免疫球蛋白 M(IgM)含量显著提高 5.26%( $P<0.05$ );FSC 组 21 日龄肉鸡血清 IgG 含量显著降低 20.95%( $P<0.05$ )。与 FSC 组相比,SFFSC 组 21 日龄肉鸡血清 IgG 和 IgM 含量分别显著提高 25.38%和 6.67%( $P<0.05$ )。与对照组相比,SFFSC 组 21 日龄肉鸡血清总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性、丙二醛(MDA)含量、总抗氧化能力(T-AOC)差异不显著( $P>0.05$ );FSC 组 21 日龄肉鸡血清 T-SOD 活性显著降低 3.72%( $P<0.05$ ),MDA 含量显著增加 16.29%( $P<0.05$ )。与 FSC 组相比,SFFSC 组 21 日龄肉鸡血清 T-SOD 活性显著提高 4.67%( $P<0.05$ ),MDA 含量显著降低 15.97%( $P<0.05$ )。综上所述,SFFSC 最优制备工艺为发酵时间 72 h、发酵温度 39 ℃、料水比 1.0:0.6、接种量 4%;FSC 经优化工艺发酵处理后,CGs 脱除率为 93.66%,营养价值得到改善;本试验建立的固态发酵工艺可有效降低 FSC 对 1~21 日龄肉鸡生长性能、免疫及抗氧化功能的不利影响。

**关键词:** 固态发酵亚麻籽饼;工艺优化;肉鸡;生长性能;免疫;抗氧化

中图分类号:S816

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)01-0257-13

收稿日期:2020-05-11

基金项目:现代农业产业技术体系国家肉鸡产业技术体系项目(CARS-41)

作者简介:郭宝珠(1992—),男,河北张家口人,硕士研究生,从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: guobaozhu957@163.com

\* 通信作者:蔡辉益,研究员,博士生导师,E-mail: caihuiyi@caas.cn

蛋白质饲料原料缺乏已成为我国畜牧业健康持续发展的主要障碍之一<sup>[1]</sup>,而开发非常规蛋白质饲料原料(unconventional protein feed ingredients, UPFI)能促进地源性饲料资源有效利用并一定程度上缓解蛋白质饲料原料缺乏的现状<sup>[2-3]</sup>。中国是亚麻的主要种植国之一,在我国西北、华北等地区亚麻种植较多<sup>[4]</sup>,亚麻籽饼粕是亚麻籽榨油后的副产物,其粗蛋白质含量为32.2%~34.8%<sup>[5]</sup>,属于典型的地源性UPFI<sup>[6]</sup>。然而,FSC中的主要抗营养因子——生氰糖苷(cyanogenic glycosides, CGs),极大地限制了其在动物饲料中的应用<sup>[7-8]</sup>。研究表明,发酵处理可以脱除UPFI(如棉籽饼粕、菜籽饼粕、亚麻籽饼粕等)中抗营养因子并改善营养组成<sup>[9]</sup>。已有的关于发酵亚麻籽饼粕的研究<sup>[10-12]</sup>多关注CGs的脱除效果,对发酵后亚麻籽饼粕营养组成变化的研究较少,而且发酵菌株多为酵母、曲霉等真菌类,鲜有枯草芽孢杆菌等细菌类发酵菌株。目前尚未有发酵亚麻籽饼粕对肉鸡生长性能、免疫及抗氧化功能影响的研究报道。因此,本试验以亚麻籽饼(flaxseed cake, FSC)为唯一发酵底物,以枯草芽孢杆菌为发酵菌株,优化固态发酵亚麻籽饼(solid-state-fermentation flaxseed cake, SFFSC)的制备工艺,并探究SFFSC对1~21日龄肉鸡生长性能、免疫及抗氧化功能的影响,以期UPFI的开发应用提供有效参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

发酵菌种:枯草芽孢杆菌由中国农业科学院饲料研究所单胃动物饲料创新团队提供,该菌在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC)的登记号为18230。

培养基:细菌基础培养基(LB培养基)由北京

陆桥技术股份有限公司提供。

发酵底物:FSC由呼和浩特市某生物科技有限公司提供。

好氧发酵袋:由中国农业科学院饲料研究所单胃动物饲料创新团队发明制作。

试验动物:1日龄科宝肉公鸡由北京大发正大有限公司提供。

### 1.2 SFFSC 制备工艺优化

#### 1.2.1 单因素试验

采用控制变量法,分别探究发酵时间、发酵温度、料水比、接种量对枯草芽孢杆菌固态发酵处理FSC脱除CGs的影响。以CGs含量为评价指标,每个单因素设5个水平,每个水平设3个重复。具体方法如下:保持接种量10%、料水比1.0:0.8、发酵温度37℃不变,设定发酵时间分别为24、36、48、60、72h,探究发酵时间对发酵结果的影响;保持接种量10%、料水比1.0:0.8、发酵时间72h不变,设定发酵温度分别为31、33、35、37、39℃,探究发酵温度对发酵结果的影响;保持接种量为10%、发酵温度37℃、发酵时间72h不变,设定料水比分别为1.0:0.6、1.0:0.7、1.0:0.8、1.0:0.9、1.0:1.0,探究料水比对发酵结果的影响;保持发酵温度37℃、发酵时间72h、料水比1:0.8不变,设定接种量分别为2%、6%、10%、14%、18%,探究接种量对发酵结果的影响。

#### 1.2.2 正交试验

在单因素试验的基础上,采用正交试验对枯草芽孢杆菌固态发酵FSC的工艺进行优化。以CGs含量为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验对发酵时间(A)、发酵温度(B)、料水比(C)、接种量(D)4个因素进行优化,每个因素设3个水平,进行3水平4因素正交试验,表1为 $L_9(3^4)$ 正交试验设计因素水平表。

表1  $L_9(3^4)$ 正交试验设计因素水平表

Table 1 Factors and levels of  $L_9(3^4)$  orthogonal experiment design

| 水平<br>Levels | 因素 Factors                         |   |                                       |                                    |
|--------------|------------------------------------|---|---------------------------------------|------------------------------------|
|              | 发酵时间<br>Fermentation<br>Time (A)/h | 发酵温度<br>Fermentation<br>temperature (B)/℃ | 料水比<br>Material to<br>water ratio (C) | 接种量<br>Inoculation<br>amount (D)/% |
|              | 1                                  | 48  | 35                                    | 1.0:0.6                            |
| 2            | 60                                 | 37  | 1.0:0.7                               | 6                                  |
| 3            | 72                                 | 39  | 1.0:0.8                               | 8                                  |

### 1.2.3 验证试验和扩大试验

按照优化的发酵工艺进行验证试验, 设置 3 个重复并测定发酵后 FSC 中 CGs 含量。按照优化的发酵工艺, 将发酵底物扩大至 30 kg 进行扩大试验。发酵组: 发酵时间 72 h、发酵温度 39 ℃、料水比 1.0:0.6、接种量 4%; 对照组: FSC 不进行任何处理。每组 3 个重复, 发酵后的样品常温自然风干。取扩大试验中各组样品测定 CGs 含量并计算 CGs 的脱毒率, 同时测定粗蛋白质、多肽、粗脂肪和粗纤维含量。

$$\text{CGs 脱毒率}(\%) = 100 \times (\text{对照组 CGs 含量} - \text{发酵组 CGs 含量}) / \text{对照组 CGs 含量}。$$

### 1.3 SFSC 对肉鸡生长性能、免疫及抗氧化功能的影响

#### 1.3.1 试验设计与试验饲料

选取 180 只 1 日龄健康科宝肉公鸡, 按初始体重无差异原则随机分成 3 个组, 每组 6 个重复, 每个重复 10 只鸡。试验周期为 21 d。对照组饲喂玉米-豆粕型基础饲料, 试验组分别饲喂含 10% FSC (FSC 组) 和 10% SFSC (SFSC 组) 的试验饲料。基础饲料与试验饲料均参考《鸡饲养标准》(NY/T 33—2004) 配制, 饲料营养水平根据中国饲料数据库中数据计算而得, 各饲料组成及营养水平见表 2。

表 2 饲料组成及营养水平 (风干基础)

Table 2 Composition and nutrient levels of diets (air-dry basis)

%

| 项目 Items                           | 对照组 Control group | FSC 组 FSC group | SFSC 组 SFSC group |
|------------------------------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| 原料 Ingredients                     |                   |                 |                   |
| 玉米 Corn                            | 55.53             | 51.14           | 51.14             |
| 豆粕 Soybean meal                    | 36.46             | 30.00           | 30.00             |
| 亚麻籽饼 FSC                           |                   | 10.00           |                   |
| 固体发酵亚麻籽饼 SFSC                      |                   |                 | 10.00             |
| 大豆油 Soybean oil                    | 3.84              | 4.60            | 4.60              |
| 磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>            | 1.96              | 1.90            | 1.90              |
| DL-蛋氨酸 DL-Met                      | 0.22              | 0.21            | 0.21              |
| L-赖氨酸 L-Lys                        | 0.02              | 0.22            | 0.22              |
| 石粉 Limestone                       | 1.15              | 1.15            | 1.15              |
| 食盐 NaCl                            | 0.28              | 0.28            | 0.28              |
| 氯化胆碱 Choline chloride              | 0.10              | 0.10            | 0.10              |
| 沸石粉 Zeolite powder                 | 0.32              | 0.28            | 0.28              |
| 预混料 Premix <sup>1)</sup>           | 0.12              | 0.12            | 0.12              |
| 合计 Total                           | 100.00            | 100.00          | 100.00            |
| 营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup> |                   |                 |                   |
| 代谢能 ME/(MJ/kg)                     | 12.54             | 12.54           | 12.54             |
| 粗蛋白质 CP                            | 21.50             | 21.50           | 21.50             |
| 钙 Ca                               | 0.95              | 0.95            | 0.95              |
| 总磷 TP                              | 0.69              | 0.72            | 0.72              |
| 有效磷 AP                             | 0.45              | 0.46            | 0.46              |
| 蛋氨酸 Met                            | 0.52              | 0.52            | 0.52              |
| 赖氨酸 Lys                            | 1.23              | 1.23            | 1.23              |

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: VA 10 000 IU, VD<sub>3</sub> 2 000 IU, VE 30 IU, VK<sub>3</sub> 3.0 mg, VB<sub>1</sub> 2.0 mg, VB<sub>2</sub> 5.0 mg, VB<sub>6</sub> 5.0 mg, VB<sub>12</sub> 0.02 mg, D-泛酸 D-pantothenic acid 15 mg, 烟酸 nicotinic acid 40 mg, 叶酸 folic acid 1 mg, 生物素 biotin 0.2 mg, Fe (as ferrous sulfate) 85 mg, Zn (as zinc sulfate) 68 mg, Cu (as copper sulfate) 10 mg, Mn (as manganese sulfate) 70 mg, I (as potassium iodide) 0.5 mg, Se (as sodium selenite) 0.3 mg。

2) 营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

#### 1.3.2 饲养管理

饲养试验于中国农业科学院南口中试基地进

行, 开展前对鸡舍严格消毒。采用全封闭式鸡舍 3 层重叠式笼养, 每笼 10 只鸡。第 1~3 天每天 24 h

光照,第3天后均为23 h光照。饲料为颗粒状,自由采食;乳头式饮水器,自由饮水。水循环式暖气供热,前3 d鸡舍温度维持在33 ℃,此后每周降低2~3 ℃,直到24 ℃,并维持在24 ℃,相对湿度控制在50%左右。试验肉鸡饲养管理和鸡舍卫生管理均按常规饲养规程进行。每天进行健康观察,记录死亡只数、时间及原因,按时记录损料、余料以及各项生长性能指标。

## 1.4 测定指标与方法

### 1.4.1 FSC与SFFSC中营养成分及CGs含量的测定

参照GB/T 6435—2014,采用鼓风干燥箱测定干物质(dry matter, DM)含量。采用杜马斯全自动定氮仪测定粗蛋白质含量。采用滤袋法测定粗纤维含量。采用索氏抽提法测定粗脂肪含量。参照GB/T 22492—2008的测定方法测定多肽含量。

参考GB/T 13084—2006的比色法测定CGs含量,具体步骤如下:准确称取10 g(精确到0.001 g)样品于500 mL三角平底蒸馏烧瓶中,加入250 mL去离子水,封口,在室温放置4 h后,加入20 mL乙酸锌溶液和2.0 g酒石酸,迅速连接于HCA-300多功能蒸馏器,进行蒸馏。将冷凝管下端插入盛有20 mL 20 g/L氢氧化钠溶液的250 mL锥形瓶液面下,收集蒸馏液约150 mL时,取下锥形瓶,将锥形瓶收集的蒸馏液完全转移至250 mL容量瓶中,用去离子水定容。量取10 mL容量瓶溶液置于25 mL比色管中,作为试样溶液。试样溶液中加入1 mL 10 g/L氢氧化钠溶液和1滴酚酞指示液,用乙酸溶液缓慢调至红色褪去,加5 mL磷酸盐缓溶液,37 ℃恒温水浴锅中保温10 min,加入0.25 mL氯胺T溶液,加塞振荡混合均匀,放置5 min。分别加入5 mL异烟酸-吡唑酮溶液,加去离子水至25 mL,混匀。37 ℃恒温水浴锅放置40 min,用2 cm比色杯,以零管调节零点,于波长638 nm处测定吸光度。

### 1.4.2 生长性能

分别于肉鸡1和21日龄时以重复为单位称重,记录总采食量、肉鸡末体重(final body weight, FBW),计算平均日增重(ADG)、平均日采食量(ADFI)和料重比(F/G)。

### 1.4.3 血清免疫和抗氧化指标

在肉鸡21日龄时,每个重复挑选与该重复平均体重接近的肉鸡1只,采血10 mL,室温静置1 h

后,3 000 r/min离心15 min后分离血清。采用日立7600全自动生化分析仪测定血清总蛋白(TP)、免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM)含量。血清总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性、丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(T-AOC)均采用试剂盒测定,试剂盒购于南京建成生物工程研究所,按照说明书操作步骤进行测定。

## 1.5 数据统计与分析

采用SPSS 20.0软件对试验数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),对组间差异显著的指标,使用Duncan氏法进行多重比较。以 $P < 0.05$ 作为差异显著性判断标准。试验数据用平均值±标准误表示。

## 2 结果与分析

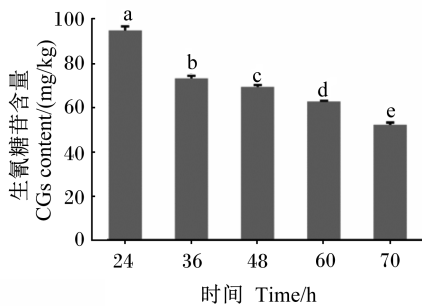
### 2.1 单因素试验结果

如图1所示,不同发酵时间下发酵FSC中CGs含量差异显著( $P < 0.05$ ),在一定范围内随着发酵时间的增加,发酵FSC中CGs含量逐渐降低,而且下降幅度越来越小,正交试验中发酵时间可设置为48、60、72 h。如图2所示,不同发酵温度下发酵FSC中CGs含量差异显著( $P < 0.05$ ),在一定范围内随着发酵温度的升高,发酵FSC中CGs含量逐渐降低,而且下降幅度越来越小,正交试验中发酵温度可设置为35、37、39 ℃。如图3所示,料水比为1.0:0.6、1.0:0.7、1.0:0.8时发酵FSC中CGs含量相近且显著低于料水比为1.0:0.9、1.0:1.0时( $P < 0.05$ ),在一定范围内随着料水比的降低,发酵FSC中CGs含量先保持不变后上升,正交试验中料水比可设置为1.0:0.6、1.0:0.7、1.0:0.8。如图4所示,接种量6%时发酵FSC中CGs含量显著低于接种量为2%、10%、14%、18%时( $P < 0.05$ ),在一定范围内随着接种量的增加,发酵FSC中CGs含量先下降后上升,正交试验中接种量可设置在6%左右。

### 2.2 正交试验结果

固态发酵FSC工艺优化正交试验结果直观分析见表3,由极差(R)值可知,按影响力大小,各发酵参数可排序为:发酵温度>发酵时间>接种量>料水比。发酵时间和发酵温度的影响力相近且对发酵结果的影响较大,料水比和接种量的影响力相近且对发酵结果的影响较小。由K值可知,A3B3C2D3的试验处理可使CGs含量降到最低水

平,此时发酵时间为 72 h、发酵温度为 39 ℃、料水比为 1.0:0.7、接种量为 8%。由表 4 可知,发酵时间水平 3 的 CGs 含量显著低于时间水平 1 和 2 ( $P<0.05$ );发酵温度水平 3 的 CGs 含量显著低于发酵温度水平 1 和 2 ( $P<0.05$ );料水比各水平间的 CGs 含量差异不显著 ( $P>0.05$ );接种量各水平间的 CGs 含量差异不显著 ( $P>0.05$ )。发酵温度和发酵时间对 CGs 含量的影响显著 ( $P<0.05$ ),因此需选取发酵温度和发酵时间最优水平作为最终的发酵参数,即温度为 39 ℃、时间为 72 h;料水比和接种量对发酵结果的影响不显著,为了节约生产成本,选取料水比 1.0:0.6、接种量 4% 作为最终的发酵参数。综上,枯草芽孢杆菌固态发酵 FSC 脱除 CGs 的最优工艺为:发酵时间 72 h、发酵温度 39 ℃、料水比 1.0:0.6、接种量 4%。



数据柱标注相同小写字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ ),不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。下同。

Value columns with the same small letter mean no significant difference ( $P>0.05$ ), while with different small letters mean significant difference ( $P<0.05$ ). The same as below.

图 1 发酵时间对发酵 FSC 中 CGs 含量的影响

Fig.1 Effects of fermentation time on CGs content in fermented FSC

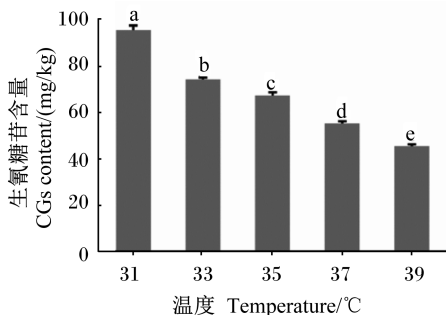


图 2 发酵温度对发酵 FSC 中 CGs 含量的影响

Fig.2 Effects of fermentation temperature on CGs content in fermented FSC

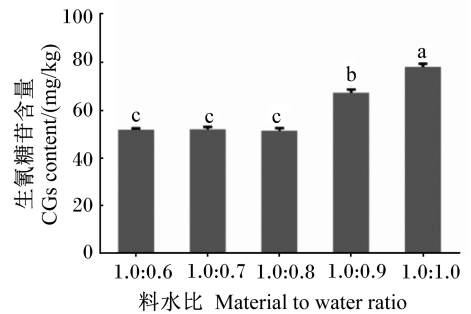


图 3 料水比对发酵 FSC 中 CGs 含量的影响

Fig.3 Effects of material to water ratio on CGs content in fermented FSC

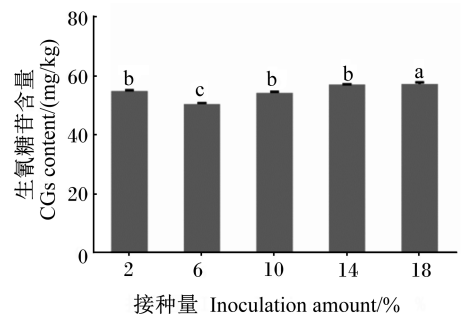


图 4 接种量对发酵 FSC 中 CGs 含量的影响

Fig.4 Effects of inoculation amount on CGs content in fermented FSC

### 2.3 验证试验和扩大试验结果

验证试验测得 CGs 含量为  $(33.42 \pm 2.05)$  mg/kg,经方差分析,其与正交试验中处理 A3B3C2D1 的 CGs 含量 [ $(38.78 \pm 0.20)$  mg/kg] 差异不显著 ( $P>0.05$ )。扩大试验结果见表 5,发酵组 CGs 含量为  $(34.78 \pm 1.86)$  mg/kg,经方差分析,其与正交试验中处理 A3B3C2D1 的 CGs 含量 [ $(38.78 \pm 0.20)$  mg/kg] 差异不显著 ( $P>0.05$ )。FSC 经优化发酵工艺处理后,CGs 含量由  $(548.47 \pm 8.76)$  mg/kg 降至  $(34.78 \pm 1.86)$  mg/kg,CGs 脱除率达到 93.66%;同时,FSC 营养组成得到改善,粗蛋白质、多肽、粗脂肪含量均显著提高 ( $P<0.05$ ),粗纤维含量变化不显著 ( $P>0.05$ )。

### 2.4 SFFSC 对肉鸡生长性能的影响

由表 6 可知,与对照组相比,SFFSC 组 1~21 日龄肉鸡 FBW、ADG、ADFI 分别显著降低 6.90%、7.26%、1.99% ( $P<0.05$ ),F/G 显著增加 6.15% ( $P<0.05$ );FSC 组 1~21 日龄肉鸡 FBW、ADG、ADFI 分别显著降低 24.69%、21.77%、10.86% ( $P<0.05$ ),F/G 显著增加 10.77% ( $P<0.05$ )。与 FSC

组相比, SFFSC 组 1~21 日龄肉鸡 FBW、ADG、(0.05), F/G 显著降低 4.17% ( $P<0.05$ )。ADFI 分别显著提高 23.62%、18.54%、9.95% ( $P<$

表 3 正交试验结果直观分析

Table 3 Visual analysis of orthogonal experiment results

| 处理<br>Treatments | 发酵时间<br>Fermentation<br>time (A)/h | 发酵温度<br>Fermentation<br>Temperature (B)/°C | 料水比<br>Material<br>to water ratio (C) | 接种量<br>Inoculation<br>amount (D)/% | 生氰糖苷含量<br>CGs content/<br>(mg/kg) |
|------------------|------------------------------------|--|---------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 1                | 1(48)                              | 1(35)                                      | 1(1.0:0.6)                            | 1(4)                               | 86.52                             |
| 2                | 1(48)                              | 2(37)                                      | 2(1.0:0.7)                            | 2(6)                               | 66.96                             |
| 3                | 1(48)                              | 3(39)                                      | 3(1.0:0.8)                            | 3(8)                               | 57.10                             |
| 4                | 2(60)                              | 1(35)                                      | 2(1.0:0.7)                            | 3(8)                               | 69.45                             |
| 5                | 2(60)                              | 2(37)                                      | 3(1.0:0.8)                            | 1(4)                               | 60.09                             |
| 6                | 2(60)                              | 3(39)                                      | 1(1.0:0.6)                            | 2(6)                               | 49.48                             |
| 7                | 3(72)                              | 1(35)                                      | 3(1.0:0.8)                            | 2(6)                               | 58.23                             |
| 8                | 3(72)                              | 2(37)                                      | 1(1.0:0.6)                            | 3(8)                               | 47.83                             |
| 9                | 3(72)                              | 3(39)                                      | 2(1.0:0.7)                            | 1(4)                               | 38.78                             |
| K1               | 210.58                             | 214.19                                     | 183.83                                | 185.38                             |                                   |
| K2               | 179.02                             | 174.88                                     | 175.18                                | 174.67                             |                                   |
| K3               | 144.83                             | 145.35                                     | 175.42                                | 174.38                             |                                   |
| $\bar{K}1$       | 70.19                              | 71.40                                      | 61.28                                 | 61.80                              |                                   |
| $\bar{K}2$       | 49.67                              | 58.29                                      | 58.39                                 | 58.22                              |                                   |
| $\bar{K}3$       | 48.27                              | 48.45                                      | 58.47                                 | 58.13                              |                                   |
| 极差 R             | 21.92                              | 22.95                                      | 2.89                                  | 3.67                               |                                   |
| 排序 Rank          |                                    | 发酵温度>发酵时间>接种量>料水比                          |                                       |                                    |                                   |

表 4 正交试验结果方差分析

Table 4 Variance analysis of orthogonal experiment results

| 水平<br>Levels | 发酵时间<br>Fermentation<br>time (A)/h | 发酵温度<br>Fermentation<br>Temperature (B)/°C | 料水比<br>Material<br>to water ratio (C) | 接种量<br>Inoculation<br>amount (D)/% |
|--------------|------------------------------------|--|---------------------------------------|------------------------------------|
| 1            | 70.19±4.35 <sup>a</sup>            | 71.40±4.30 <sup>a</sup>                    | 61.28±6.37                            | 61.80±6.92                         |
| 2            | 59.67±3.09 <sup>b</sup>            | 58.29±2.89 <sup>b</sup>                    | 58.39±5.01                            | 58.22±2.75                         |
| 3            | 48.28±2.99 <sup>c</sup>            | 48.45±2.73 <sup>c</sup>                    | 58.47±3.25                            | 58.13±3.31                         |
| P 值 P-value  | <0.01                              | <0.01                                      | 0.89                                  | 0.82                               |

同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

In the same column, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ), while with different small letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ).

## 2.5 SFFSC 对肉鸡血清免疫指标的影响

由表 7 可知, 与对照组相比, SFFSC 组 1~21 日龄肉鸡血清 TP、IgA、IgG 含量差异不显著 ( $P>0.05$ ), IgM 含量显著提高 5.26% ( $P<0.05$ ); FSC 组 1~21 日龄肉鸡血清 IgG 含量显著降低 20.95% ( $P<0.05$ )。与 FSC 组相比, SFFSC 组 1~21 日龄肉鸡血清 IgG 和 IgM 含量分别显著提高 25.38%

和 6.67% ( $P<0.05$ )。

## 2.6 SFFSC 对肉鸡血清抗氧化指标的影响

由表 5 可知, 与对照组相比, SFFSC 组 1~21 日龄肉鸡血清 T-SOD 活性、MDA 含量、T-AOC 差异不显著 ( $P>0.05$ ); FSC 组 1~21 日龄肉鸡血清 T-SOD 活性显著降低 3.72% ( $P<0.05$ ), MDA 含量显著增加 16.29% ( $P<0.05$ )。与 FSC 组相比,

SFFSC 组 1~21 日龄肉鸡血清 T-SOD 活性显著提 (  $P<0.05$  )。

高 4.67% (  $P<0.05$  ), MDA 含量显著降低 15.97%

表 5 扩大试验结果(干物质基础)

Table 5 Results of expanded test (DM basis)

| 项目 Items         | 对照组 Control group        | 发酵组 Fermentation group  |
|------------------|--------------------------|-------------------------|
| 粗蛋白质 CP/%        | 36.79±0.37 <sup>b</sup>  | 39.43±0.53 <sup>a</sup> |
| 多肽 Polypeptide/% | 1.65±0.06 <sup>b</sup>   | 4.41±0.03 <sup>a</sup>  |
| 粗纤维 CF/%         | 12.54±0.34               | 13.17±0.33              |
| 粗脂肪 EE/%         | 9.52±0.09 <sup>b</sup>   | 10.22±0.07 <sup>a</sup> |
| 生氰糖苷 CGs/(mg/kg) | 548.47±8.76 <sup>a</sup> | 34.78±1.86 <sup>b</sup> |

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著 (  $P>0.05$  ), 不同小写字母表示差异显著 (  $P<0.05$  )。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference (  $P>0.05$  ), while with different small letter superscripts mean significant difference (  $P<0.05$  ). The same as below.

表 6 SFFSC 对 1~21 日龄肉鸡生长性能的影响

Table 6 Effects of SFFSC on growth performance of broilers during 1 to 21 days of age

| 项目 Items          | 对照组 Control group        | FSC 组 FSC group          | SFFSC 组 SFFSC group       |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 末体重 FBW/ g        | 891.17±6.16 <sup>a</sup> | 706.59±8.95 <sup>c</sup> | 829.67±17.54 <sup>b</sup> |
| 平均日增重 ADG/(g/d)   | 42.40±0.30 <sup>a</sup>  | 33.17±0.45 <sup>c</sup>  | 39.32±0.88 <sup>b</sup>   |
| 平均日采食量 ADFI/(g/d) | 55.23±0.64 <sup>a</sup>  | 49.23±1.36 <sup>c</sup>  | 54.13±1.40 <sup>b</sup>   |
| 料重比 F/G           | 1.30±0.01 <sup>c</sup>   | 1.44±0.03 <sup>a</sup>   | 1.38±0.02 <sup>b</sup>    |

表 7 SSFFC 对 1~21 日龄肉鸡血清免疫指标的影响

Table 7 Effects of SSFFC on serum immune indexes of broilers during 1 to 21 days of age

g/L

| 项目 Items    | 对照组 Control group      | FSC 组 FSC group        | SFFSC 组 SFFSC group    |
|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 总蛋白 TP      | 30.63±0.70             | 26.98±1.47             | 29.18±1.00             |
| 免疫球蛋白 A IgA | 1.17±0.08              | 1.08±0.03              | 1.12±0.04              |
| 免疫球蛋白 G IgG | 6.73±0.66 <sup>a</sup> | 5.32±0.37 <sup>b</sup> | 6.67±0.49 <sup>a</sup> |
| 免疫球蛋白 M IgM | 0.76±0.02 <sup>b</sup> | 0.75±0.02 <sup>b</sup> | 0.80±0.05 <sup>a</sup> |

表 8 SSFFC 对 1~21 日龄肉鸡血清抗氧化指标的影响

Table 8 Effects of SSFFC on serum antioxidant indexes of broilers during 1 to 21 days of age

| 项目 Items              | 对照组 Control group       | FSC 组 FSC group         | SFFSC 组 SFFSC group      |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 总超氧化物歧化酶 T-SOD/(U/mL) | 99.84±1.70 <sup>a</sup> | 96.13±1.34 <sup>b</sup> | 100.62±0.77 <sup>a</sup> |
| 丙二醛 MDA/(nmol/mL)     | 3.07±0.21 <sup>b</sup>  | 3.57±0.16 <sup>a</sup>  | 3.00±0.08 <sup>b</sup>   |
| 总抗氧化能力 T-AOC/(mmol/L) | 0.52±0.02               | 0.47±0.02               | 0.50±0.03                |

### 3 讨论

#### 3.1 固态发酵 FSC 脱除 CGs 的机理

亚麻籽含有的 CGs 主要为  $\beta$ -龙胆二糖丙酮氰醇 (linustatin, LN) 和  $\beta$ -龙胆二糖甲乙酮氰醇 (neolinustatin, NN) [13], 榨油过程中 LN 和 NN 几乎全部存留于 FSC 中且百分含量升高 [14]。研究

表明, LN 和 NN 均可被  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解为氰醇和葡萄糖, 氰醇在中性和碱性环境中非常不稳定, 能自发分解产生酮化合物和氰化氢 (hydrogen cyanide, HCN), 羧腈裂解酶可加速氰醇的分解 [15-16]。FSC 中存在  $\beta$ -葡萄糖苷酶, 但是该酶与 CGs 存在于不同部位而不能接触 [17], 而且 FSC 中的  $\beta$ -葡萄糖苷酶活性低、稳定性差且易在榨油过程中失

去活性<sup>[18]</sup>。微生物(如酵母菌、细菌、霉菌等)亦能产生 $\beta$ -葡萄糖苷酶<sup>[19-20]</sup>。发酵过程中,微生物分泌的各种酶可破坏FSC的组织结构,CGs与 $\beta$ -葡萄糖苷酶充分接触而被水解,产生的HCN易挥发,从而达到FSC脱毒。CGs的脱除率与 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性相关,不同微生物分泌的 $\beta$ -葡萄糖苷酶活性不同,其水解糖苷类物质的能力也不同<sup>[21]</sup>。研究表明,酿酒酵母固态发酵处理FSC可脱除79.91%的CGs<sup>[10]</sup>,假丝酵母和黑曲霉混菌发酵FSC可脱除73.22% CGs<sup>[11]</sup>,菌株多枝横梗霉(*Lichtheimia ramosa*)发酵FSC可脱除89.00%的CGs<sup>[12]</sup>。本研究发现,FSC经枯草芽孢杆菌固态发酵处理后,CGs含量由548.47 mg/kg降至37.78 mg/kg,脱除率为93.66%,表明本研究所用枯草芽孢杆菌脱除CGs的能力较强。

### 3.2 固态发酵FSC工艺优化

单因素试验结果为正交试验因素水平范围的选择提供了参考依据。发酵时间是影响发酵进程与结果的重要因素,主要通过影响发酵菌株的数量以及产酶量而间接影响发酵结果<sup>[22]</sup>,发酵时间不足会导致抗营养因子脱除量降低,而发酵时间过长则会增加生产成本。单因素试验结果表明,在一定范围内随着发酵时间的增加,发酵FSC中CGs含量逐渐降低,而且下降幅度越来越小;正交试验结果表明,不同发酵时间下CGs脱除量存在显著差异,发酵72 h后,CGs得到有效脱除,若此时继续延长发酵时间,CGs的脱除量不会发生显著变化,而且还会因过度发酵导致FSC中其他营养成分的损失,同时增加发酵成本。发酵温度可通过直接影响菌种的代谢速率、营养需求、酶活性而改变发酵进程和结果,同时可通过影响物质的溶解性、扩散和运输间接影响发酵结果<sup>[23]</sup>,而且不同菌种所需发酵温度不同<sup>[24-25]</sup>。单因素试验结果表明,在一定范围内随着发酵温度的升高,发酵FSC中CGs含量逐渐降低,而且下降幅度越来越小;正交试验结果表明,不同发酵温度下CGs脱除量存在差异显著,最适发酵温度为39℃。枯草芽孢杆菌适宜生长的温度较高<sup>[26]</sup>,因而决定了固态发酵工艺的温度也较高。发酵底物初始含水量对菌种的生长代谢影响很大<sup>[27]</sup>,含水量过高会导致发酵原料黏性增加,料间空隙减少,换气量减少,生长代谢产生的废气会影响菌株的正常生长,而引起发酵停滞。研究表明,随着含水量的增加,

固态发酵棉籽粕脱除棉酚的效果先升高后降低<sup>[28]</sup>。本研究发现,在一定范围内随着料水比的降低,发酵FSC中CGs含量先保持不变后上升,最适料水比为1.0:0.6。适宜的接种量对保证发酵效果具有重要意义<sup>[23]</sup>,接种量不足,菌株细胞量减少,相关酶分泌量下降,严重降低发酵效率,而且接种量过少还会因发酵菌株未能及时繁殖到一定数量引起杂菌污染;而接种量过多,菌体生长繁殖过快则会提前进入稳定期甚至衰亡期,从而影响发酵效果。韦涛等<sup>[29]</sup>利用纳豆芽孢杆菌固态发酵小米糠的研究结果表明,随着接种量的增加,发酵效果先升高后降低。单因素试验结果表明,在一定范围内随着接种量的增加,发酵FSC中CGs含量先下降后上升,最适接种量在6%附近;正交试验结果表明,4%、6%、8%的接种量下CGs脱除量差异不显著,因此确定最优接种量为4%。

### 3.3 SFFSC对肉鸡生长性能的影响

CGs具有苦味能降低饲料适口性<sup>[30]</sup>,从而使动物采食量下降。本研究发现,SFFSC组1~21日龄肉鸡ADFI显著高于FSC组。FSC经固态发酵处理后,CGs含量降低,适口性得到改善,从而提高了肉鸡的ADFI。动物采食大量未经处理的FSC会引起急性中毒,CGs进入动物消化道内可分解产生HCN,而氰基(CN-1)可与细胞色素氧化酶的3价铁结合而阻断细胞呼吸链,从而导致动物因细胞窒息而死亡<sup>[31]</sup>;此外,若动物摄入CGs未达到急性中毒剂量,亦会引起慢性中毒,HCN在动物体内解毒过程中产生的硫氰酸盐可导致碘缺乏症,如甲状腺肿、视神经受损及生长性能下降等<sup>[14]</sup>。Zanu等<sup>[32]</sup>研究表明,饲料中添加木薯粉(含CGs)可降低肉鸡的采食量及生长性能;Anjum等<sup>[33]</sup>研究发现,饲料中添加5%的FSC可显著降低肉鸡的生长性能;Pekel等<sup>[34]</sup>研究发现,饲料中添加10%的亚麻籽可显著降低肉鸡的生长性能。本研究发现,与对照组相比,FSC组肉鸡FBW、ADG和ADFI显著降低,这与前期众多报道一致;FSC经固态发酵处理后CGs含量由548.47 mg/kg降至37.78 mg/kg,SFFSC组生长性能显著高于FSC组,表明固态发酵处理可有效降低FSC中CGs对肉鸡生长性能的消极影响。饲料原料经发酵处理后,大分子蛋白质得到分解,多肽含量增加,益生物质增多,营养组成发生积极变化,因此发酵饲料往往能表现出一定的促生长作用<sup>[35-36]</sup>。



本研究发现, FSC 经固态发酵处理后粗蛋白质和多肽含量得到提高, 但 SFFSC 组肉鸡 FBW、ADG、ADFI 与对照组相比均有略微降低且 F/G 增加, 即 SFFSC 没有表现出促生长作用。这可能是由于固态发酵处理并未有效降低 FSC 中可溶性非淀粉多糖 (soluble nonstarch polysaccharide, SNSP) 的含量, SFFSC 组饲料中 SNSP 含量过高造成了食糜的营养屏障效应<sup>[37]</sup>, 从而使 SFFSC 并未表现出促生长作用。

### 3.4 SFFSC 对肉鸡免疫和抗氧化功能的影响

血清 TP 含量间接体现了机体免疫水平的高低<sup>[38]</sup>, 而血清 IgG、IgM 含量能直接反映动物的全身免疫状态<sup>[39]</sup>, 血清中 MDA 含量、T-SOD 活性、T-AOC 是反映机体抗氧化功能的重要指标<sup>[40]</sup>。研究表明, CGs 在机体内产生的 HCN 在解毒过程需要消耗体内的含硫氨基酸、硫代硫酸盐等硫供体<sup>[41]</sup>, 而体内含硫氨基酸及其中间代谢产物对维持机体免疫和抗氧化功能起着重要作用<sup>[42-43]</sup>, 因此 FSC 中 CGs 可导致肉鸡免疫和抗氧化功能的降低。本研究发现, SFFSC 组与对照组 21 日龄肉鸡血清 TP 含量相近且均高于 FSC 组, SFFSC 组 21 日龄肉鸡血清 IgM 含量显著高于对照组和 FSC 组, SFFSC 组 21 日龄肉鸡血清 IgG 含量与对照组无显著差异但显著高于 FSC 组; SFFSC 组 21 日龄肉鸡血清 T-SOD 活性与对照组无显著差异且均显著高于 FSC 组, SFFSC 组 21 日龄肉鸡血清 MDA 含量与对照组无显著差异且均显著低于 FSC 组。由此表明, 枯草芽孢杆菌固态发酵处理 FSC 可有效降低 CGs 对肉鸡免疫和抗氧化功能的不利影响。

## 4 结 论

① 枯草芽孢杆菌固态发酵 FSC 最优工艺为: 发酵时间 72 h、发酵温度 39 ℃、料水比 1.0:0.6、接种量 4%。

② FSC 经优化工艺发酵处理后, CGs 脱除率为 93.66%, 营养组成得到改善。

③ 本试验建立的固态发酵工艺可有效降低 FSC 对 1~21 日龄肉鸡生长性能、免疫及抗氧化功能的不利影响。

### 参考文献:

[1] 吴正可, 刘国华, 蔡辉益, 等. 硫甙脱毒菌株的筛选及

其发酵菜籽粕的效果[J]. 动物营养学报, 2018, 30(1): 313-320.

WU Z K, LIU G H, CAI H Y, et al. Screening of detox strains of glucosinolate and preliminary study on fermentation of rapeseed meal[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(1): 313-320. (in Chinese)

[2] 周艳, 周晓容. 非常规发酵饲料在养猪生产中的应用[J]. 饲料工业, 2019, 40(12): 9-14.

ZHOU Y, ZHOU X R. Application of unconventional fermented feed in pig production[J]. Feed Industry, 2019, 40(12): 9-14. (in Chinese)

[3] 陈鑫珠, 刘景, 陈炳钊, 等. 非常规饲料资源的开发利用成效分析与发展对策[J]. 中国草食动物科学, 2020, 40(1): 56-60.

CHEN X Z, LIU J, CHEN B D, et al. Analysis and strategies of the effectiveness of the development and utilization of unconventional feed resources[J]. Chinese Herbivore Science, 2020, 40(1): 56-60.

[4] 帅瑞艳, 刘飞虎. 亚麻起源及其在中国的栽培与利用[J]. 中国麻业科学, 2010, 32(5): 282-286.

SHUAI R Y, LIU F H. Origin of flax as well as its cultivation and utilization in China[J]. Plant Fiber Science in China, 2010, 32(5): 282-286. (in Chinese)

[5] 中国饲料数据库. 中国饲料成分及营养价值表(2018 年第 29 版)[J]. 中国饲料, 2018(21): 64-73.

China Feed Database. China feed ingredients and nutritional value table (29th edition of 2018)[J]. China Feed, 2018(21): 64-73. (in Chinese)

[6] 邓雪娟, 于继英, 刘晶晶, 等. 我国生物发酵饲料研究与应用进展[J]. 动物营养学报, 2019, 31(5): 1981-1989.

DENG X J, YU J Y, LIU J J, et al. Research and application progress of biological fermented feed in China[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(5): 1981-1989. (in Chinese)

[7] OOMAH B D, MAZZA G, KENASCHUK E O. Cyanogenic compounds in flaxseed[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(8): 1346-1348.

[8] 郝京京, 李胜利, 谢拉准, 等. 亚麻籽与亚麻籽饼粕的营养价值及其在畜禽饲料中的应用[J]. 动物营养学报, 2020, 32(9): 4059-4069.

HAO J J, LI S L, XIE L Z, et al. Nutritive values of flaxseed and flaxseed meal and their application in livestock and poultry diets[J]. Chinese Journal of Ani-

- mal Nutrition, 2020, 32 ( 9 ) : 4059 - 4069. ( in Chinese )
- [ 9 ] 常寨成, 黄海龙, 施维. 发酵饲料原料的特点及发酵优势[J]. 粮食与饲料工业, 2019(1) : 44-48.  
CHANG Z C, HUANG H L, SHI W. Features and advantages of fermented feed ingredients [ J ]. Food and Feed Industry, 2019(1) : 44-48. ( in Chinese )
- [ 10 ] 梅莺, 黄庆德, 邓乾春, 等. 亚麻饼粕微生物脱毒工艺[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(3) : 111-114.  
MEI Y, HUANG Q D, DENG Q C, et al. Microbial detoxification process of flaxseed meal [ J ]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39 ( 3 ) : 111 - 114. ( in Chinese )
- [ 11 ] ZHAI S S, ZHOU T, LI M M, et al. Fermentation of flaxseed cake increases its nutritional value and utilization in ducklings [ J ]. Poultry Science, 2019, 98(11) : 5636-5647.
- [ 12 ] LI C H, WEI J S, JING Y P, et al. A  $\beta$ -glucosidase-producing M-2 strain; isolation from cow dung and fermentation parameter optimization for flaxseed cake [ J ]. Animal Nutrition, 2019, 5(1) : 101-108.
- [ 13 ] BACALA R, BARTHET V J. Development of extraction and gas chromatography analytical methodology for cyanogenic glycosides in flaxseed (*Linum usitatissimum*) [ J ]. Journal of AOAC International, 2007, 90 ( 1 ) : 153-161.
- [ 14 ] BEKHIT A E D, SHAVANDI A, JODJAJA T, et al. Flaxseed: composition, detoxification, utilization, and opportunities [ J ]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2018, 13 : 129-152.
- [ 15 ] WHITE W L B, ARIAS-GARZON D I, MCMAHON J M, et al. Cyanogenesis in cassava. The role of hydroxynitrile lyase in root cyanide production [ J ]. Plant Physiology, 1998, 116(4) : 1219-1225.
- [ 16 ] HICKEL A, HASSLACHER M, GRIENGL H. Hydroxynitrile lyases: functions and properties [ J ]. Physiologia Plantarum, 1996, 98(4) : 891-898.
- [ 17 ] IMRAN M, ANJUM F M, BUTT M S, et al. Reduction of cyanogenic compounds in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) meal using thermal treatment [ J ]. International Journal of Food Properties, 2013, 16 ( 8 ) : 1809-1818.
- [ 18 ] 姚瑶, 霍元鹏, 周伟, 等. 高产  $\beta$ -葡萄糖苷酶菌株的筛选及产酶条件优化 [ J ]. 江西农业学报, 2018, 30 ( 3 ) : 97-101.  
YAO Y, HUO Y P, ZHOU W, et al. Screening of  $\beta$ -glucosidase-highly-producing strains and optimization of their fermentation conditions [ J ]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2018, 30(3) : 97-101. ( in Chinese )
- [ 19 ] 汤晓宏, 胡文效, 蒋锡龙, 等. 葡萄酒酿造过程中产  $\beta$ -葡萄糖苷酶酵母菌研究进展 [ J ]. 中国酿造, 2020, 39(4) : 7-12.  
TANG X H, HU W X, JIANG X L, et al. Research progress on  $\beta$ -glucosidase-producing yeast in the brewing process of wine [ J ]. China Brewing, 2020, 39 ( 4 ) : 7-12. ( in Chinese )
- [ 20 ] 张媛媛, 苏敏, 朴春红, 等. 微生物来源的  $\beta$ -葡萄糖苷酶在食品工业中应用进展 [ J ]. 食品工业科技, 2019, 40(16) : 329-335.  
ZHANG Y Y, SU M, PU C H, et al. Application progress of microorganism-derived  $\beta$ -glucosidase in food industry [ J ]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(16) : 329-335. ( in Chinese )
- [ 21 ] 石彩蕊, 王义强, 陈介南, 等. 产  $\beta$ -葡萄糖苷酶微生物育种研究进展 [ J ]. 生物技术通报, 2011 ( 3 ) : 59-65.  
SHI C R, WANG Y Q, CHEN J N, et al. Research progress of breeding for  $\beta$ -glucosidase strain [ J ]. Biotechnology Bulletin, 2011(3) : 59-65. ( in Chinese )
- [ 22 ] 吴正可, 刘国华, 李阳, 等. 混菌固态发酵菜籽粕工艺优化 [ J ]. 中国农业科学, 2019, 52(24) : 4603-4612.  
WU Z K, LIU G H, LI Y, et al. Optimization of solid state fermentation for rapeseed meal with mixed strains [ J ]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(24) : 4603-4612. ( in Chinese )
- [ 23 ] 张文芝, 郭坚华. 微生物发酵工艺优化研究进展 [ J ]. 广东农业科学, 2013, 40(6) : 114-117.  
ZHANG W Z, GUO J H. Research advances in microbial fermentation process optimization [ J ]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013, 40 ( 6 ) : 114 - 117. ( in Chinese )
- [ 24 ] 杨希娟, 孙小凤, 肖明, 等. 马铃薯渣发酵生产菌体蛋白饲料的工艺条件优化 [ J ]. 农产品加工 ( 创新版 ), 2009(6) : 41-44.  
YANG X J, SUN X F, XIAO M, et al. Optimization of the technological conditions for the production of mycelial protein feed by potato residue fermentation [ J ]. Agricultural Product Processing ( Innovation Edition ), 2009(6) : 41-44. ( in Chinese )
- [ 25 ] 刘慧. 现代食品微生物学 [ M ]. 2 版. 北京: 中国轻工业出版社, 2011 : 123-125.  
LIU H. Modern food microbiology [ M ]. 2nd ed. Beijing: China Light Industry Press, 2011 : 123 - 125. ( in Chinese )

- [26] 秦艳, 李卫芬, 黄琴. 枯草芽孢杆菌发酵条件的优化[J]. 饲料研究, 2007(12): 70-74.  
QIN Y, LI W F, HUANG Q. Optimization of fermentation conditions of *Bacillus subtilis* [J]. Feed Research, 2007(12): 70-74. (in Chinese)
- [27] GERVAIS P, MOLIN P. The role of water in solid-state fermentation[J]. Biochemical Engineering Journal, 2003, 13(2/3): 85-101.
- [28] 王云超. 棉籽蛋白固态发酵菌种筛选、组合优化及生产工艺的研究[D]. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2017: 24-25.  
WANG Y C. Study on strain screening, combinatorial optimization and production engineering off solid-state fermented cottonseed meal[D]. Master's Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017: 24-25. (in Chinese)
- [29] 韦涛, 周启静, 陆兆新, 等. 纳豆芽孢杆菌固态发酵小米糠产抗氧化肽工艺优化[J]. 食品科学, 2017, 38(10): 66-73.  
WEI T, ZHOU Q J, LU Z X, et al. Optimization of solid state fermentation conditions for production of antioxidant peptides from millet bran by *Bacillus natto* [J]. Food Science, 2017, 38(10): 66-73. (in Chinese)
- [30] 朱玉燕, 鄢波龙, 赵宇瑛, 等. 绿竹笋苦味物质成分分析[J]. 食品科技, 2015, 40(8): 77-80.  
ZHU Y Y, WU B L, ZHAO Y Y, et al. Analysis of bitter compounds in harvested bamboo shoots [J]. Food Science and Technology, 2015, 40(8): 77-80. (in Chinese)
- [31] HOLSTEGE C P, FORRESTER J D, BOREK H A, et al. A case of cyanide poisoning and the use of arterial blood gas analysis to direct therapy[J]. Hospital Practice, 2010, 38(4): 69-74.
- [32] ZANU H K, AZAMETI M K, ASARE D. Effects of dietary inclusion of cassava root flour in broiler diets on growth performance, carcass characteristic and haematological parameters[J]. International Journal of Livestock Production, 2017, 8(3): 28-32.
- [33] ANJUM F M, HAIDER M F, KHAN M I, et al. Impact of extruded flaxseed meal supplemented diet on growth performance, oxidative stability and quality of broiler meat and meat products[J]. Lipids in Health and Disease, 2013, 12: 13.
- [34] PEKEL A Y, PATTERSON P H, HULET R M, et al. Dietary camelina meal versus flaxseed with and without supplemental copper for broiler chickens: live performance and processing yield [J]. Poultry Science, 2009, 88(11): 2392-2398.
- [35] SUGIHARTO S, RANJITKAR S. Recent advances in fermented feeds towards improved broiler chicken performance, gastrointestinal tract microecology and immune responses: a review [J]. Animal Nutrition, 2019, 5(1): 1-10.
- [36] TARAZ Z, JALALI S M A, RAFEIE F. Effects of replacement of soybean meal with rapeseed meal on organs weight, some blood biochemical parameters and performance of broiler chicks [J]. International Journal of Poultry Science, 2006, 5(12): 1110-1115.
- [37] JIA W, SLOMINSKI B A. Means to improve the nutritive value of flaxseed for broiler chickens: the effect of particle size, enzyme addition, and feed pelleting [J]. Poultry Science, 2010, 89(2): 261-269.
- [38] 于光辉, 王煜琦, 刘正方, 等. 半胱胺螯合锌对育肥猪免疫性能、抗氧化能力、血清生化指标及肠道微生物的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(4): 1891-1898.  
YU G H, WANG Y Q, LIU Z F, et al. Effects of cysteamine checked zinc on immunity function, antioxidant capacity, serum biochemical indexes and intestinal microflora of finishing pigs [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(4): 1891-1898. (in Chinese)
- [39] ZHU J J, GAO M X, ZHANG R L, et al. Effects of soybean meal fermented by *L. plantarum*, *B. subtilis* and *S. cerevisiae* on growth, immune function and intestinal morphology in weaned piglets [J]. Microbial Cell Factories, 2017, 16(1): 191.
- [40] ZHENG X C, WU Q J, SONG Z H, et al. Effects of oridonin on growth performance and oxidative stress in broilers challenged with lipopolysaccharide [J]. Poultry Science, 2016, 95(10): 2281-2289.
- [41] 王洪荣, 皮宇, 王梦芝, 等. 木薯渣的饲用价值及其在反刍动物生产上的应用 [J]. 饲料工业, 2014, 35(15): 1-6.  
WANG H R, PI Y, WANG M Z, et al. The feeding value of cassava residue and its application in the ruminant production [J]. Feed Industry, 2014, 35(15): 1-6. (in Chinese)
- [42] 冯艳, 杨琳, 朱勇文, 等. 蛋氨酸调控动物主要生理功能的机制 [J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(3): 228-237.  
FENG Y, YANG L, ZHU Y W, et al. Methionine regulates the major physiological functions of animals

[J]. Science China: Life Sciences, 2019, 49(3): 228–237. (in Chinese)

- [43] 刘振华, 周加义, 张得香, 等. 蛋氨酸及其一碳代谢产物促进肠道上皮更新机制的研究进展[J]. 动物营养学报, 2020, 32(8): 3552–3559.

LIU Z H, ZHOU J Y, ZHANG D X, et al. Research advances in mechanism of methionine and its carbon metabolites promoting intestinal epithelial renewal[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(8): 3552–3559. (in Chinese)

## Process Optimization of Solid-State Fermented Flaxseed Cake and Its Effects on Growth Performance, Immunity and Antioxidant Function of Broilers during 1 to 21 Days of Age

GUO Baozhu CAI Huiyi\* LIU Guohua LI Yang CHANG Wenhuan  
ZHENG Aijuan CHEN Zhimin

(Key Open Laboratory of Feed Biotechnology of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Engineering Research Center for Biological Feed Development, Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to optimize the production process of solid-state fermented flaxseed cake (SFFSC), and investigate the effects of SFFSC on growth performance, immunity and antioxidant function of broilers during 1 to 21 days of age. A single-factor experiment was carried out to investigate the effects of fermentation parameters such as fermentation time, fermentation temperature, material to water ratio and inoculation amount on the removal of cyanogenic glucoside (CGs) from flaxseed cake (FSC) by solid-state fermentation with *Bacillus subtilis*. Based on the single-factor experiment, the orthogonal optimization was performed about the above fermentation parameters. According to the optimized fermentation process, the verification test and the expansion test were performed and the contents of nutrients and CGs in FSC before and after fermentation were determined. A total of 180 one-day-old Cobb male broilers were randomly divided into 3 groups with 6 replicates per group and 10 broilers per replicate. Broilers in the control group were fed a basal diet, and the others in the experimental groups were fed the basal diet supplemented with 10% FSC (FSC group) and 10% SFFSC (SFFSC group), respectively. The experiment lasted for 21 days. The results showed that the optimal process for producing SFFSC was: fermentation time 72 h, temperature 39 °C, the ratio of material to water 1.0:0.6, and inoculation amount 4%. There were no significant differences among the results of the verification experiment, expansion experiment and orthogonal experiment ( $P>0.05$ ). After fermentation, the removal rate of CGs in FSC reached 93.66% and the contents of crude protein, peptides and ether extract in FSC were significantly increased ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, the final body weight (FBW), average daily gain (ADG) and average daily feed intake (ADFI) of broilers during 1 to 21 days of age in the SFFSC group were significantly decreased by 6.90%, 7.26% and 1.99%, respectively ( $P<0.05$ ), and the feed to gain ratio (F/G) were significantly increased by 6.15% ( $P<0.05$ ); the FBW, ADG and ADFI of broilers during 1 to 21 days of age in the FSC group were significantly decreased by 24.69%, 21.77% and 10.86%, respectively ( $P<0.05$ ), and the F/G were significantly increased by 10.77% ( $P<0.05$ ). Compared with FSC group, the FBW, ADG and ADFI of broilers during 1 to 21 days of age in the SFFSC group were significantly increased by 23.62%, 18.54% and 9.95%, respectively ( $P<0.05$ ), and the F/G was significant-

\* Corresponding author, professor, E-mail: caihuiyi@caas.cn

ly decreased by 4.17% ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences about the contents of total protein (TP), immunoglobulin A (IgA) and immunoglobulin G (IgG) in serum of the 21-day-old broilers between the SFFSC group and the control group ( $P > 0.05$ ). Compared with the control group, the content of immunoglobulin M (IgM) in serum of the 21-day-old broilers in the SFFSC group was significantly increased by 5.26% ( $P < 0.05$ ); the content of IgG in serum of the 21-day-old broilers in the FSC group was significantly decreased by 20.95% ( $P < 0.05$ ). Compared with the FSC group, the contents of IgG and IgM in serum of the 21-day-old broilers in the SFFSC group were significantly increased by 25.38% and 6.67%, respectively ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences about the total superoxide dismutase (T-SOD) activity, malondialdehyde (MDA) content and total antioxidant capacity (T-AOC) in serum of the 21-day-old broilers between the SFFSC group and the control group ( $P > 0.05$ ). Compared with the control group, the activity of T-SOD in serum of the 21-day-old broilers in the FSC group was significant decreased by 3.72% ( $P < 0.05$ ), and the content of MDA was significantly increased by 16.29% ( $P < 0.05$ ). Compared with the FSC group, the activity of T-SOD in serum of the 21-day-old broilers in the SFFSC group was significantly increased by 4.67% ( $P < 0.05$ ), and the content of MDA was significantly decreased by 15.97% ( $P < 0.05$ ). In summary, the optimal producing process of SFFSC is: fermentation time 72 h, fermentation temperature 39 °C, material to water ratio 1.0:0.6 and inoculation amount 4%. After fermentation, the removal rate of CGs in FSC is 93.66%, and the nutritional value of FSC was improved. The solid-state fermentation process established in this study can significantly reduce the adverse effects of FSC on the growth performance, immunity and antioxidant function of broilers during 1 to 21 days of age. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(1):257-269]

**Key words:** solid-state fermented flaxseed cake; process optimization; broilers; growth performance; immunity; antioxidant