

混菌发酵提高甘薯渣饲用价值的研究*

王淑军¹ 吕明生² 王永坤³

1(淮海工学院食品工程系,连云港,222005)

2(扬州大学畜牧兽医学院,扬州,225009)

3(连云港世联国际贸易有限责任公司,连云港,222006)

摘 要 对选育的扣囊拟内孢霉 K991 株、产朊假丝酵母 C986 株和绿色木霉 T995 株混合发酵甘薯渣生产的单细胞蛋白产品的饲用价值进行了研究。发酵产品的粗蛋白含量由发酵前 8% 提高到 26.9% ,纤维素降解了 36.16% ,产品富含酵母活细胞和消化酶。替代 20% 饲喂猪试验表明,产品适口性好,能降低料肉比,促进生长,具有较好的应用前景。

关键词 甘薯渣,单细胞蛋白,混菌培养,动物实验

单细胞蛋白是指用微生物生产蛋白质,目前世界各国都在大力发展单细胞蛋白工业,以解决食用蛋白和饲用蛋白紧缺的矛盾^[1]。我国要发展单细胞蛋白工业必须走适合我国国情的道路,即选择来源广泛、价格低廉的原料及低成本的工艺来生产单细胞蛋白。目前我国食品发酵工业废渣和农作物秸秆大多没有充分利用,这不仅造成资源浪费,而且造成环境污染^[2]。

甘薯渣是生产淀粉和粉丝的下脚料,在连云港市的东海、灌云、赣榆等县及我国山东、河北、四川等省,有许多大中型甘薯淀粉和粉丝生产厂家,每年产生大量淀粉废渣。据初步调查,仅连云港市每年约产甘薯渣 20 多万 t,这些淀粉渣为高纤维低蛋白废渣,饲用价值低,过多饲喂畜禽易导致发育不良和疾病。由于甘薯渣含水量高,若不及时晒干很容易产酸发霉发臭,造成环境污染。采用生物技术降解淀粉渣纤维素,将其转化为富含多种消化酶和活性酵母细胞的单细胞蛋白,对促进当地经济的发展和环境保护无疑具有重要意义。

利用甘薯渣生产单细胞蛋白的研究国内外未见报道。经过几年研究分离筛选到蛋白

含量高、有效降解甘薯渣纤维素、能利用淀粉、生长繁殖快、抗杂能力强的菌株,通过混菌固态发酵技术,提高了蛋白含量,降解了纤维素含量,平衡了氨基酸组成,消除了酸臭味,改善了适口性,产品酸甜窖香,极大地提高了甘薯渣的饲用价值。

1 材料与方法

1.1 菌 株

扣囊拟内孢霉 K991,产朊假丝酵母 C986,绿色木霉 T995 菌,从长期堆放甘薯渣的土壤和甘薯淀粉废水分离筛选得到。

1.2 培养基

斜面培养基:5°B 麦芽汁琼脂和 PDA 琼脂。

液态培养基:5°B 麦芽汁和 PDA 液体。

分离筛选培养基:PDA 琼脂、淀粉琼脂、刚果红纤维素琼脂^[3]、滤纸条培养基^[3]。

纤维素分解菌种子培养基:稻草粉 70% ,麸皮 30% ,硫酸铵 2.5% ,物料加水比为 1:2.45,pH 自然。

固态发酵培养基:甘薯渣 70% ,麸皮 30% ,无机盐少量 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2% ,尿素 2% ,物料加水比为 1:1.2 ~ 1.5,pH 自然。

第一作者 硕士,副教授。

* 江苏省科技厅应用基础研究项目(No. BJ99012)

收稿时间 2001-12-20

1.3 菌株分离筛选

1.3.1 酵母菌

采集的样品取少量加入含有 50 mL PDA 液体培养基中的 300 mL 三角瓶中,于 30℃、110 r/min 培养 2~3 d,再分别稀释涂布于 PDA 琼脂平板上,观察菌落特征、镜检个体形态,将筛选得到的酵母菌分纯培养保藏。

1.3.2 纤维素分解菌^[3]

将采集的样品用刚果红纤维素琼脂、滤纸条培养基按文献^[3]的方法进行筛选。

1.4 菌株制备和固态发酵方法

1.4.1 菌株制备

取酵母菌少量斜面种子,加入含有 50 mL PDA 液态培养基中,于 30℃、110 r/min 培养 24 h,再以 10% 接入 50 mL 同样培养基中,110 r/min,30℃培养 24 h。取纤维素分解菌斜面孢子少量,接入纤维素分解菌种子培养基,30℃培养 72 h。

1.4.2 固态发酵方法

将制备的菌株以一定比例和接种量接入灭菌的固态发酵培养基中,于 30℃培养 24 h,40℃烘箱风干保藏。培养过程注意控制温度和湿度。

1.5 菌株生长特性和发酵条件的研究

研究菌株对淀粉的利用和尿素添加量对不同发酵方式中酵母菌株生长的影响,并在以往研究的基础上^[4]采用正交试验和单因子搜索研究混菌发酵条件如各菌株接入比例、接入量、培养基配比和非蛋白氮添加量对菌株生长的影响,以得到最佳发酵工艺参数。

1.6 急性毒性试验^[5]

对 3 株菌株和发酵产品进行急性毒性试验。

1.7 小型曲池发酵试验

根据小试结果,在面积为 10 m² 发酵室自制 237 cm × 114 cm × 90 cm 的通风发酵池上,进行发酵试验,研究其工艺参数,为养殖效果试验提供产品。

1.8 养殖效果试验

1.8.1 供试猪的选择和分组

选择体重、日龄相近、健康的三元杂生长猪 20 头,随机分为 2 组,每组 10 头(公母各半)。两组体重差异不显著($P > 0.05$)。

1.8.2 基础日粮配方及日粮营养水平

玉米 14%,豆饼 12%,麸皮 30%,米油 40%,促长精 1.5%,骨粉 2.0,盐 0.5。消化能 12.57 MJ/kg,粗蛋白 14.82%,钙 0.77%,总磷 0.95%。对照组喂基础日粮,试验组添加发酵产品 20%,米油改为 35%,麸皮改为 15%,其余同对照组。

1.8.3 饲养管理及记录内容

试验期为 44 d(预试期 5 d,正试期 39 d),预试期自由采食,日喂 3 次,全期自由饮水。实验开始前进行驱虫、防疫,试验、对照 2 组饲养管理水平均一致。试验期间每天观察记录各组采食、排泄、精神等情况,详细记录始重、末重、耗料量、分别计算出日增重、日采食量、料肉比等指标。饲养结束后按常规进行屠宰,观察胃、肠、心、肝、肾、脾等主要脏器有无病变,并做组织切片观察。

1.9 成分测定

水分测定:用快速水分测定仪测定。

酵母活菌数的测定:平板菌落计数法。

还原糖和淀粉的测定:见文献^[6]。

粗蛋白测定^[7]:样品中残留的游离的氨态氮的测定是将样品用 20 倍样品重量的去离子水浸泡 2 h,定容后离心,取上清液用微量凯氏定氮法定氮;总氮与氨态氮之差乘以 6.25 得粗蛋白含量。

粗纤维测定:见文献^[6]。

纤维素酶测定:CMC 酶活力、FP 酶活力测定按文献^[3]进行。

淀粉酶活力测定:见文献^[8]。

氨基酸测定:由江苏省农科院饲料食品研究所测定。

2 结果与讨论

2.1 菌株的初步筛选

2.1.1 酵母菌株的筛选

2.1.1.1 酵母菌株的筛选

将分离筛选得到的 115 株酵母菌 10% 接种于固态发酵培养基中,通过菌数的测定和菌株生长状态,选出生长较好且菌数较高的 10 株菌再次进行发酵试验,其活菌数和粗蛋白含量见图 1,综合这 2 个指标,以 a、d、e、f 菌株较好。

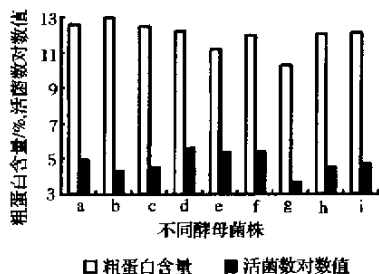


图 1 不同酵母菌粗蛋白含量和活菌数对数值的比较

2.1.1.2 分解淀粉菌株的筛选

由于甘薯淀粉渣含有少量淀粉,为充分利用基质营养,降低生产成本,筛选能产生淀粉酶的酵母菌株尤为重要。将分离筛选的 115 株酵母菌分别点种于淀粉平板中,待菌落长出后,滴加碘液,取透明圈较大的菌株进行产酶发酵试验,选取酶活力较高的酵母菌株 991 为应试菌株,经鉴定该菌株为扣囊拟内孢霉,命名为 K991。

2.1.1.3 协同酵母菌株的筛选

将 K991 菌株分别与上述 10 株酵母菌以 1:1 配比,10% 接种于固体发酵培养基中,其菌株生长状况见图 2。从图中可以看出,混菌发酵好于单菌发酵,这是由于产淀粉酶酵母将淀粉转化为糖,酵母利用糖自身增长,糖的减少又促使前者增殖,因此各酵母菌株均有不同程度的增加。上述 10 株酵母菌中 a 菌株与 K991 配伍较好,经鉴定 a 菌株为产朊假丝酵母,命名为 C986。

2.1.2 纤维素分解菌的筛选

将近几年筛选到的产纤维素酶菌株^[3,4]和扣囊拟内孢霉 K991 及产朊假丝酵母 C986 进行多次混菌发酵,通过测定酵母活菌数、粗蛋白及纤维素降解率,发现绿色木霉 T995 菌

与这 2 株菌配伍较好(另文报道)。

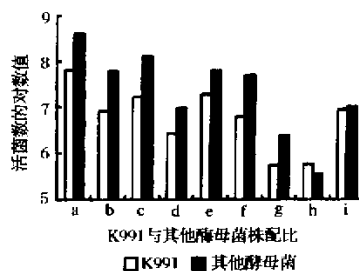


图 2 酵母菌株配比对菌株生长的影响

2.2 菌株生长特性的研究

2.2.1 酵母菌株对淀粉利用

将 K991 与 C986 两菌株以不同比例进行混合发酵,来考察菌株配比对菌株利用淀粉的影响。从图 3 (0:0 表示没接任何菌株的对照样品)可以看出,混合发酵好于单菌株发酵,培养基中残余淀粉和还原糖含量较少。

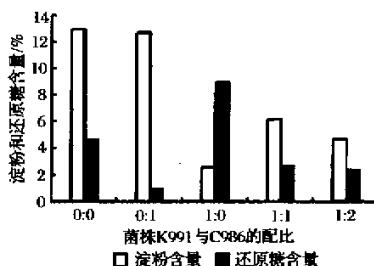


图 3 菌株配比对菌株利用淀粉的影响

2.2.2 尿素添加量对不同发酵方式中酵母菌株生长的影响

2.2.2.1 尿素对单菌发酵中 K991 和 C986 菌株生长的影响

在培养基中添加不同量的尿素,分别接种 K991 和 C986 进行发酵试验,结果见图 4,培养基中尿素添加量在 2.5% 对 K991 单菌株生长有利,在 2% 对 C986 单菌株生长较好。

2.2.2.2 尿素对混菌发酵中 C986 生长的影响

改变培养基中尿素添加量,分别接种酵母混菌(K991 和 C986 比例为 1:2)和纤维酵母混菌(T995 和 K991 及 C986 比例 1:1:2)进

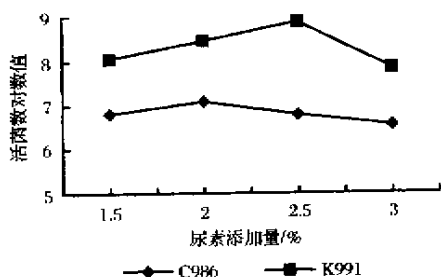


图 4 尿素添加量对酵母单菌生长的影响

行发酵试验,结果见图 5,酵母混菌和纤维酵母混菌发酵时尿素添加量均在 2% 对酵母菌生长较好,且纤维酵母混菌发酵好于酵母混菌发酵。

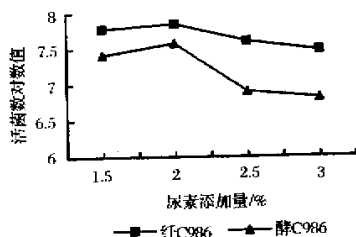


图 5 尿素添加量对不同混菌发酵中 C986 酵母菌生长的影响

2.3 发酵条件的研究

2.3.1 混菌菌株接种比例

选用 $L_4(3^2)$ 正交表,考察 K991、C986 及 T995 菌这 3 株的接种比例对发酵产品的影响。结果见表 1,经综合分析选择这 3 株菌的接种比例为 10^7 、 10^7 、 10^8 较适宜。

表 1 混菌接种比例的正交试验数据表

	菌 株			指 标	
	K991	C986	T995	粗蛋白含量/%	粗纤维含量/%
1	10^8	10^7	10^7	14.04	12.21
2	10^7	10^7	10^8	16.47	11.81
3	10^8	10^8	10^8	15.27	13.27
4	10^7	10^8	10^7	14.65	13.46

2.3.2 混菌菌株接种量

将这 3 株菌按上述比例,分别按 5%、10.5%、15% 和 20% 接种量接入固态发酵培养基中,培养 24h 后于低温烘干,测定粗蛋白

和粗纤维含量,结果见图 6,混菌接种量以 10.5% 为宜。

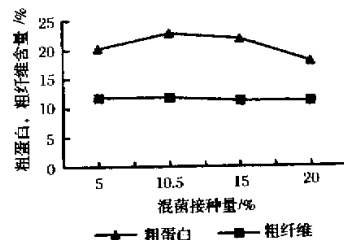


图 6 混菌接种量对发酵的影响

2.3.3 培养基中甘薯渣与麸皮比例

改变培养基中甘薯渣与麸皮比例进行发酵试验,结果见图 7,综合比较各指标,甘薯渣与麸皮比例以 7:3 为宜。

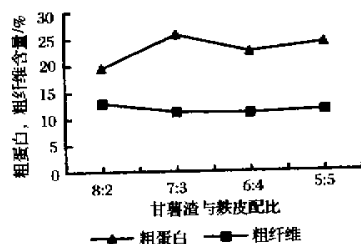


图 7 甘薯渣与麸皮配比对发酵的影响

2.3.4 培养基中非蛋白氮含量对发酵的影响

固定尿素添加量(2%),改变培养基中硫酸铵的添加量或固定硫酸铵添加量(2%),改变培养基尿素的添加量进行发酵试验,结果见图 8 和图 9,综合各指标,培养基中硫酸铵和尿素添加量均以 2% 为宜。

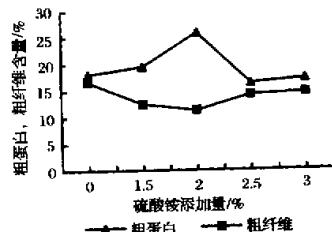


图 8 硫酸铵添加量对发酵的影响

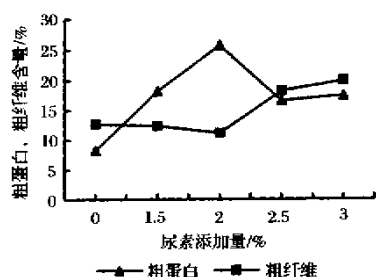


图9 尿素添加量对发酵的影响

2.4 小型曲池发酵试验

在 10m^2 的全封闭发酵室,对 $237\text{cm} \times 114\text{cm} \times 90\text{cm}$ 的通风发酵池中进行连续3次(1999年5月、2000年5月及2001年5月),每次5~7批的发酵生产,得出适合该发酵池的工艺条件:无机盐及尿素要分别加水混匀,然后加入7:3混好的甘薯渣粉与麸皮中,控制物料的加水量使灭菌后物料加水比为1:1.2~1.5,先加热发酵室使其室温在 30°C 以上,并在发酵前期保持 30°C ,物料产热后保持在 25°C 左右,接入菌的物料充分混匀后铺入发酵池中,并使物料的入池温度控制并保持在 $28 \sim 30^\circ\text{C}$,产热前依物料情况开鼓风机通氧,产热后观察插在物料上的温度计进行通风,使物料的温度控制在 $28 \sim 30^\circ\text{C}$ 之间,通风过多会导致物料发干,24 h后出料,自然晒干。每批物料重量约 $30 \sim 40\text{kg}$,过多不易散热,过少物料则易干。

2.5 急性毒性试验

菌株和发酵产品经小白鼠口服及腹腔注射,各组小白鼠均健活,无不良反应,剖检内脏器官观察,无眼观病理变化,取胃、肠、心、肝、肾、脾等主要脏器做病理切片检查,未见任何显微病理变化,表明菌株和发酵产品均无毒性作用。

2.6 养殖效果试验

在整个试验期间试验组无发病现象,通过剖检内脏器官观察,无眼观病理变化,取胃、肠、心、肝、肾、脾等主要脏器做切片检查,未见任何显微病理变化,表明该发酵料无毒性作用。生长猪经44 d喂养试验,结果见表

2,试验组的日增重比对照组多 19.14g ,增加 2.31% ,降低了料肉比,头均提高效益 104.45 元,提高率达 14.91% 。

表2 生长猪饲喂效果比较 kg

	始均重	终均重	总增重	总耗料	料肉比
试验组	44.10 ± 3.10	83.10 ± 15.60	390.0	1236.3	3.17
对照组	44.13 ± 1.87	82.25 ± 7.75	381.2	1238.9	3.25

2.7 发酵饲料成分分析

分析结果表3和表4表明微生物发酵技术对甘薯渣的提高是多方面的,不只限于蛋白质的增加。第1,改善了蛋白质品质,平衡了氨基酸的组成。表4可知,必需氨基酸均有不同程度的提高。第2,降解了难于利用的纤维素。第3,产品含有丰富的消化酶(如纤维素酶、淀粉酶)和活性酵母细胞、维生素等生长因子,将有助于提高动物对饲料的利用。

表3 发酵料部分成分测定

序号	技术指标	含量
1	粗蛋白含量	26.90%
2	纤维素降解率	36.16%
3	酵母活细胞	33 亿
4	CMC 酶活力	1 616.68 u
5	FP 酶活力	296.53 u
6	淀粉酶	2340 u

表4 发酵料的氨基酸分析

氨基酸	对 照	发酵料
天门冬氨酸	0.327	0.598
苏氨酸	0.104	0.248
丝氨酸	0.131	0.302
谷氨酸	0.822	1.320
脯氨酸	0.251	0.373
甘氨酸	0.235	0.394
丙氨酸	0.184	0.411
胱氨酸	-	0.087
缬氨酸	0.440	0.659
蛋氨酸	0.136	0.208
异亮氨酸	0.161	0.547
亮氨酸	0.380	0.665
酪氨酸	0.220	0.370
苯丙氨酸	0.399	0.506
赖氨酸	0.188	0.441
组氨酸	0.056	0.109
精氨酸	0.241	0.475

率和转化率、增强畜禽免疫力、减少发病率和死亡率。第四,改善了适口性。甘薯渣含水量高,若不及时晒干很容易腐烂、产酸发霉发臭,即使冬天从生产线下下来 1~2 d 即有酸臭味,经过微生物发酵后,消除了酸臭味,物料酸甜窖香。

参 考 文 献

- 1 郭维烈,郭庆华著. 新型发酵蛋白饲料. 北京: 科学技术出版社, 1996. 77~78
- 2 徐立平,高孔荣. 食品与发酵工业, 1994(2): 63~

66

- 3 王淑军,杨从发等. 淮海工学院学报, 1999, 1: 42~46
- 4 王淑军,刘孝国等. 中国饲料, 1996, 2: 19~22
- 5 金建中. 工业微生物, 1994, 24(4): 1~4
- 6 罗明全. 食品营养成分分析. 北京: 中国食品工业出版社, 1987. 50~51
- 7 马辉文,王疆元. 武汉大学学报, 1994, 4: 107~114
- 8 邬显章编. 酶的工业生产技术. 吉林: 吉林出版社, 1988. 1

Studies on Feeding Value of Sweet Potato Waste by Mixed Culture

Wang Shujun¹ Lu Mingsheng² Wang Yongkun³

(1 Department of Food Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang, 222005)

(2 College of Animal Husbandry and Veterinary Science, Yangzhou University, Yangzhou, 222009)

(3 Lianyungang World Union Int'l Corp., Lianyungang, 222006)

ABSTRACT The feed of single cell protein were produced by using *Endomycopsis fibuligera* K991, *Candidum utilis* C986 and *Trichoderma koningii* T995 on sweet potato waste via solid state fermentation process. The feeding value of single cell protein was studied. The results showed that the content of pure protein of product increase 26.9% from 8% of the unfermented mixture, the rate of cellulose decreasing was 36.16%. The trials of feeding pig with product showed that it could stimulate appetite, reduce the ratio of meat to feed, promote growth and the application of the product has better perspective.

Key words sweet potato waste, single cell protein, mixed culture, animal test

英国研制出多层复合材料的食品新包装

为了解决塑料包装容易导致氧渗透使产品储存一段时间之后发生风味流失、颜色变化的问题,一些包装公司采用多层挤压技术或将除氧剂包放在食品包装中,但两种方法均存在不同的缺陷。最近,英国 Huhta-maki 公司成功研制出一种新型塑料包装,具有被动和主动屏障两种功能,有效抑制了氧的渗入,甚至在食品袋包装蒸煮之后,作用仍然不会减弱。它不仅可以延长产品的储存期,而且可以直接采用微波炉加热,特别适合于方便食品的包装。

被称为“屏障之和”的新包装由 6 层不同材料复合而成。第一层为聚丙烯——一种具有高阻油性聚合材料;第二和第四层为粘合胶,之间第三层是阻氧聚合材料 EVOH(被动屏障);第五层是除氧剂混合物,被称为主动屏障,不仅可以阻止外来氧分子进入,而且可以吸附包装内的氧。最后是一层聚丙烯材料。

聚丙烯是理想的制造乳品加热容器的材料。EVOH 材料在高温杀菌过程中,由于水分浸入,导致阻隔功能降低,50 天之后,产品就有变色和变味的可能。而新包装中,除氧剂即使在有水分的情况下仍然能够保持活性,因此可以保证产品的保质期不变。