

利用甜菜粕生产固体发酵饲料

周人纲 樊志和 李晓芝 王占武 韩 炜

(河北省农业科学院生理生化研究所, 石家庄 050051)

摘要 用黑曲霉将甜菜废粕进行固体发酵, 确定了适合的氮源、水份、pH、时间等发酵条件, 生产出高蛋白的饲料。

关键词 黑曲霉; 固体发酵; 甜菜废粕

甜菜是我国北方主要的糖料作物, 每 100 公斤甜菜榨糖后剩余 40 公斤废粕。目前这些废粕主要是做饲料直接出售, 由于糖业生产的季节性很强, 不少糖厂的废粕因销售不及时而腐烂造成环境污染; 直接做饲料使用, 由于甜菜废粕的主要成份是纤维素、半纤维素、果胶等, 而蛋白质含量低, 因而生物价也低。Grajek 等^[1-3]曾用不同菌种进行发酵来提高其蛋白含

量, 国内尚未见报道。我们利用黑曲霉以甜菜废粕为原料生产蛋白饲料, 并对发酵条件进行了探索。

材料与 方法

(一) 菌种

黑曲霉 (*Aspergillus niger*) AS3.316, 来自中国科学院微生物研究所。

(二) 原料

甜菜废粕由河北省昌黎糖厂提供, 晾晒风干后, 磨碎过 40 目筛。

(三) 培养基

- 1. 种子培养基: PDA 培养基。
- 2. 甜菜废粕固体发酵培养基: 500ml 三角瓶加 9g 磨碎的甜菜粕, 1g 麸皮。灭菌后接黑曲霉孢子悬浮液 2ml, 28℃ 下培养。

(四) 分析方法

- 1. 粗蛋白质测定按 GB6432-86 方法进行。
- 2. 还原糖测定用 Somogyi 比色法。
- 3. 粗纤维测定用 Van Soest 的方法^[4]。
- 4. 氨基酸测定用日立 835-50 氨基酸分析仪按标准水解液方法进行。
- 5. 果胶酶活性测定用马建华的方法^[5]。
- 6. 纤维素 C₁ 酶和 C_x 酶活力测定用崔福绵的方法^[6]。

结 果 与 讨 论

(一) 菌种的选择

1. 黑曲霉 AS3.316 菌株属国际公认用于食品上安全的微生物, 已广泛地应用于食品工业。黑曲霉的菌丝体(包括少量孢子), 蛋白质含量在 50% 以上, 而且氨基酸配比平衡, 特别是单胃动物所必需的赖氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苏氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸含量都高于 FAD/WHO 的记分标准, 黑曲霉菌丝体蛋白氨基酸含量见表 1。

2. 黑曲霉 AS3.316 菌株能产生果胶酶和纤维素酶, 特别是果胶酶和 β-葡萄糖苷酶的活力比木霉、宇佐美曲霉要高得多, 因而能充分地利用工农业生产中纤维类物质的废料, 进而将它们转化为蛋白饲料, 分别用麸皮和甜菜粕作底物, 28℃ 下, 180r/min 振荡液体培养 3 天后测定两种酶的活力见表 2。

(二) 原料成份

为了更好地利用甜菜粕, 我们对其成份进行了分析测定, 结果表明它的主要成份是纤维类物质, 大约占 70% 左右。蛋白含量不到 10%, 其成分如表 3。

表 1 黑曲霉菌丝体和发酵产品的氨基酸组成(%)

氨基酸名称	菌 丝 体	发酵产品
天门冬氨酸	3.969	2.943
苏 氨 酸	1.978	1.850
丝 氨 酸	1.868	1.853
谷 氨 酸	6.718	3.307
脯 氨 酸	1.385	1.325
甘 氨 酸	2.491	1.907
丙 氨 酸	3.478	2.040
半胱氨酸	0.301	0.504
缬 氨 酸	2.597	2.009
蛋 氨 酸	0.400	0.280
异亮氨酸	2.057	0.703
亮 氨 酸	3.898	2.119
酪 氨 酸	1.230	1.092
苯丙氨酸	2.270	1.245
赖 氨 酸	3.414	1.509
组 氨 酸	0.646	0.290
精 氨 酸	2.401	1.346

表 2 黑曲霉的纤维素酶和果胶酶活力分析(u/g 底物)

底 物	C ₁ 酶	C _x 酶	β-葡萄糖苷酶	果胶酶
麸 皮	56.6	1017	805	900
甜菜废粕	42	1012	727	1080

表 3 甜菜废粕的主要成分

成 份	粗纤维*	果胶	蛋白质	可溶性糖	脂肪	灰分	水分
含量(%)	49	21	9.8	2.4	1	5.3	6.4

* 粗纤维包括纤维素、半纤维素、木质素

(三) 发酵条件的研究

1. 不同氮源对固体发酵产品蛋白质含量及收率的影响: 选用 6 种不同的氮源, 它们分别相当于 4% 的硫酸铵的总 N 量(硫酸铵/甜菜废粕)来计算的添加量, 这 6 种氮源依次为 1. 氨水, 2. NH₄Cl, 3. 尿素, 4. (NH₄)₂SO₄, 5. (NH₄)₂HPO₄ 和 6. 2% (NH₄)₂SO₄+2.4(NH₄)₂HPO₄。在 pH 为 5、水分为 60% 条件下发酵, 所得产品的收率(产品/原料)和蛋白质含量见图 1。

从图 1 可以看出用氨水作氮源, 产品的蛋白质含量最低为 24.5%, 而用 2% (NH₄)₂SO₄+2.4% (NH₄)₂HPO₄ 做氮源时产品蛋白含量最高

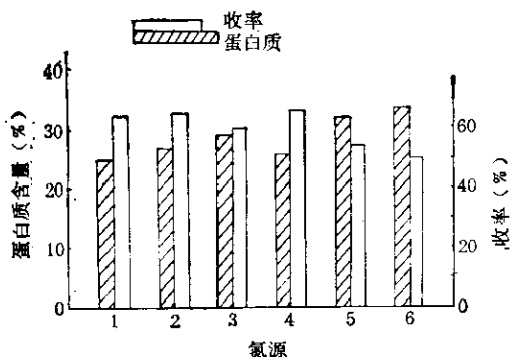


图1 不同氮源所得发酵产品蛋白含量及收率

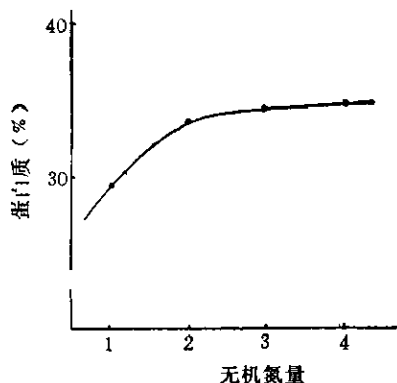


图2 无机氮添加量对发酵产品蛋白含量的影响

1. 1.3% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 1.6% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$;
2. 2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 2.4% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$;
3. 3% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 4% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$;
4. 4% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 4.6% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

为 33.7%，因而以后实验均采用此氮源。

在此基础上为找出适当的无机氮添加量，进行了四组试验对比。

结果表明，随着无机氮添加量的增加，产品蛋白质含量逐渐提高，当无机氮添加到 2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 2.4% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 以上时，蛋白质含量略有提高，但氨基酸分析结果（数字从略）表明，17 种氨基酸的总量并没有提高，说明其利用率并没有提高，所以 2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 2.4% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 添加量最为合适。

2. 发酵时含水量对产品蛋白含量的影响：发酵过程中，试验了 4 种不同的含水量对产品蛋白质含量的影响。

从图 3 可以看出，70% 的含水量对菌体蛋白合成最有利，过高和过低都会影响菌体的生长。

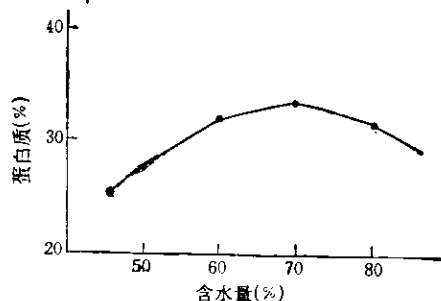


图3 含水量对发酵产品蛋白含量的影响

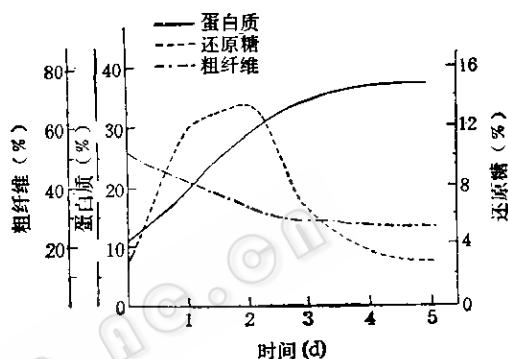


图4 发酵过程中蛋白质、还原糖、粗纤维的变化

3. pH 对产品蛋白含量的影响：pH 5 或 7 时产品蛋白含量在 32—33.5% 之间，pH 6 时略高一些。总的看来发酵基质的 pH 对最终产品的蛋白含量影响比其他因素要小。

4. 固体发酵时间动态：根据上述条件，即添加 2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 2.4% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 做氮源，70% 的含水量，pH 为 6 时做为甜菜废粕固体发酵的条件，接种后 1—5 天定时取样分别测定蛋白质、糖分和粗纤维含量，结果见图 4。

图 4 表明，发酵开始，由于菌体分泌酶的作用，分解果胶和纤维素使还原糖增加很快，至 24 小时由原来的 1.83% 上升至 11.95%，随着菌体利用还原糖合成菌体蛋白，2 天后还原糖逐渐减少。同时还可以看出，由于纤维素酶的作用培养基中的粗纤维含量逐渐下降，前 3 天下降幅度较大。蛋白质含量开始上升较快，发酵 3 天由最初的 10.51% 达到 33.75%，以后增加缓慢，5 天时为 36.30%。根据收率和蛋白含量二个因素综合考虑，实际应用时选择了 3

天的发酵时间为宜。

(四) 甜菜废粕固体发酵产品质量分析

根据以上选定的条件,将实验扩大一倍,即用 1000ml 三角瓶,每瓶加 18g 甜菜粕、2g 麸皮,一次五瓶进行固体发酵,重复二次,对其进行了主要营养成分的分析,二次的平均结果如表 4。

表 4 固体发酵产品主要营养成分表*

成 份	蛋白质	还原糖	粗纤维	果胶	灰分	水分
含量(%)	33.7	6.5	29.1	5.8	11.4	5.6

* 氨基酸分析见表 1。

经过固体发酵,蛋白含量提高了 3.4 倍,还原糖提高了 2.7 倍,必需氨基酸也明显高于谷物类饲料。

参 考 文 献

1. Grajek W: *Biotechnology and Bioengineering*, **32**: 255—260, 1988.
2. Nigam Poonam et al.: *Biotechnology Letter*, **10**: 755—758, 1988.
3. Bajon AM et al.: *Biotechnology Letters*, **7**: 203—206, 1985.
4. Van Soest P. J.: *Journal of the A. O. A. C.*, **50**: 50—55, 1967.
5. 马建华等: *微生物学通报*, **12**(2): 62—64, 1985。
6. 崔福绵等: *真菌学报*, **3**(1): 59—64, 1984。

(1991-12-18 收稿)