

苹果渣发酵生产饲料蛋白的菌种筛选

籍保平 尤希凤

张博润

(中国农业大学食品学院 北京 100083)

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

摘要: 通过对初选的 100 株菌种进行筛选, 选到了适合苹果渣发酵的菌种, 在此基础上进行双菌种混生发酵, 获得了优良的菌种组合。采用所选菌种组合在通过试验所确定的配方和试验条件下进行了发酵, 所得产物的粗蛋白含量达到 29.30%, 提高 45.77%, 蛋白质含量达到 27.56%, 提高 82.88%, 粗纤维降低幅度为 23.27%。试验结果还表明, 所选菌种组合有降低棉籽饼中棉酚含量的作用, 降低幅度超过 90%。

关键词: 苹果渣, 饲料蛋白, 菌种筛选

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(1999)-06-0390-04

THE SCREENING OF THE STRAINS FOR THE FERMENTATION OF POMACE IN TO FEEDING-PROTEIN

Ji Baoping YOU Xifeng

(China Agricultural University, Beijing 100083)

ZHANG Borun

(Institute of Microbiology, Chinese Academy of Science, Beijing 100080)

Abstract: The suitable strains for producing feeding-protein from pomace were obtained from 100 strains by conventional methods. On the basis of the stains, the experiment on the combination of two-strains was conducted on and the optimal strains combination was acquired subsequently. As a result, from the experiment under the appropriate condition and the medium, the content of raw protein reached 29.30%, protein 27.56%, which was increased 45.77% and 82.88% respectively. The content of raw cellulose was reduced 23.27%. The result also showed the function of the combination of strains on the detoxication of hydroxybenzene, the decreasing rate was more than 90%.

Key words: Pomace, Feeding-protein, Fermentation, Screening

我国年产苹果接近 2000 万吨, 苹果加工中每年排出苹果渣 100 多万吨, 加上其它水果的果渣, 每年排出果渣几百万吨。目前, 果渣除少量被用于深加工外, 绝大部分被遗弃, 巨大的潜在资源白白浪费, 而且造成严重的环境污染。苹果渣的无氮浸出物含量较高, 其主要成分是可溶性的碳水化合物、果胶、除脂肪酸以外的有机酸和半纤维素。通过添加合适的氮源, 经微

生物发酵可将其转化为单细胞蛋白饲料。这是解决废弃果渣出路的重要途径。对解决我国蛋白饲料资源的缺乏和提高水果种植和加工业的效益, 减少环境污染具有重要意义。

近些年来, 在酒糟、秸秆、甘薯渣等农产品加工废弃物生产单细胞蛋白饲料方面的研究多

收稿日期: 1998-08-26, 修回日期: 1999-02-20

有报道^[1-5],对苹果渣生产发酵蛋白饲料方面的研究十分少见,相应地菌种的系统筛选方面的研究尚未见于报道。本文主要通过菌种的筛选,确定出适合苹果渣发酵生产单细胞蛋白饲料的菌种或菌种组合。

1 材料与方 法

1.1 菌种

初步选出菌种 100 株,其中包括丝状真菌、酵母菌、细菌。由中国科学院微生物研究所提供。

1.2 发酵原料

苹果渣:选新鲜国光苹果,在裹包式榨汁机上榨汁,取果渣在 65℃ 烘箱内烘干至含水量 6.2%~6.5%,用配有 40 目筛的粉碎机粉碎。

1.3 培养基

1.3.1 平板培养基 1(%):苹果渣 1,琼脂 2,自然 pH。

1.3.2 平板培养基 2(%):苹果渣 3,琼脂 2,自然 pH。

1.3.3 平板培养基 3(%):苹果渣 5,琼脂 2,自然 pH。

1.3.4 平板培养基 4(%):苹果渣 10,琼脂 2,自然 pH。

1.3.5 固体发酵培养基(%):苹果渣 50,麸皮 5,自来水 45,自然 pH。

1.4 试验方法

待测菌→初筛:平板点种生长观察→单菌复筛:固体发酵试验分析→双菌混生筛选:平板点种生长观察,固体发酵试验分析→氮源及配方试验→发酵条件试验→成分分析→选出最优菌种组合。

每种试验均同时做 3 个平行试验,结果为三次试验的平均值。

1.5 测定方法

粗蛋白测定:微量凯氏定氮法(GB/T14770-90)。

粗脂肪测定:索氏提取法(GB/T12088-89)。

粗纤维测定:酸碱洗涤法(GB/T6434-94)。

灰分的测定:灰化法(GB/T6438-92)。

2 结果与分析

2.1 初筛

根据苹果渣发酵对菌种的要求和相关文献的研究结果,初步选出 100 株菌种为待选菌,采用平板点种筛选法,在苹果渣含量分别为 1%, 3%, 5%, 10% 的培养基上点种所选菌种,培养 3d 并进行观察。

在 1% 的培养基上,微生物生长缓慢,菌丝稀少难辨,说明果渣浓度太低,生长所需营养物质不足。在 3%, 5%, 10% 的培养基上,菌种生长较好,菌丝密度较大,说明果渣中含有微生物生长所需的营养物质。根据菌种在果渣含量为 3%, 5%, 10% 培养基上的生长情况,选出 23 株菌丝稠密、菌落突起明显的菌为下一步单菌固体发酵试验的菌株。

2.2 复筛

为进一步验证平板观察筛选的结果,对初筛选出的 23 株菌进行固体发酵试验,测定发酵产物的粗蛋白含量,从中选出发酵产物中粗蛋白含量较高的菌种。发酵产物的粗蛋白含量测定结果见表 1。由单菌固体发酵试验,共选出 12 株发酵产物粗蛋白含量相对较高的菌种,并将这 12 株菌作为下一步筛选的待选菌。

表 1 单菌固体发酵试验产物的粗蛋白含量

代号	粗蛋白含量 (%)	代号	粗蛋白含量 (%)	代号	粗蛋白含量 (%)
M1	5.33	M9	3.22	M17	6.46
M2	2.59	M10	2.66	M18	5.95
M3	3.37	M11	3.93	M19	4.84
M4	2.70	M12	3.18	M20	6.36
M5	5.31	M13	2.81	M21	5.47
M6	4.64	M14	6.53	M22	3.63
M7	6.30	M15	6.40	M23	2.81
M8	3.58	M16	3.59	对照	2.70

注:含水量:6.2~6.5%。

2.3 双菌混生试验

2.3.1 平板点种筛选试验:在复筛选出的 12 株菌种的基础上,首先采用平板点种筛选法进行单菌培养和双菌培养(以白地霉为指示菌,将其与所筛选出的 12 株菌两两配伍),在苹果渣含

量分别为3%,5%,10%的培养基上点种待筛选的菌种,培养3d并进行观察。试验结果表明,双菌混合发酵效果普遍明显好于单菌发酵。根据试验结果选出6组生长速度快、菌落突起明显的菌种组合。

2.3.2 双菌组合固体发酵试验:为验证上述平板点种筛选的结果,对平板点种筛选出的较好的6种菌种组合进行双菌混生固体发酵试验,观察微生物生长速度,测定发酵产物的粗蛋白含量。

表2 双菌组合固体发酵产物粗蛋白含量

重复	粗蛋白含量(%)						对照
	M23+M18	M23+M14	M23+M15	M23+M17	M23+M20	M23+M21	
1	12.5	12.6	8.6	8.9	7.9	7.7	7.5
2	12.8	12.7	8.8	8.7	7.8	7.5	7.5
3	11.9	12.1	8.4	8.3	8.0	8.3	7.3
平均值	12.1	12.5	8.6	8.6	7.9	7.8	7.4

注:含水量:6.2~6.5%。

发酵产品粗蛋白含量测定结果表明:M23(白地霉)+M18(米根霉)和M23(白地霉)+M14(康宁木霉)的蛋白质含量明显高于其它组合。

根据固体发酵微生物生长情况和粗蛋白测定结果,选出两种用于苹果渣发酵生产单细胞蛋白的优良菌种组合,即白地霉+康宁木霉和白地霉+米根霉。试验中发现白地霉+米根霉组合生长后期容易长出黑色孢子,所以这种菌种组合有待于进一步的试验以确定黑色孢子生长的原因和抑制的方法。

2.4 氮源和配方的确定和发酵条件试验

采用所筛选出的优良菌种组合,对添加尿素、硫酸铵、硝酸钠和硫酸钾等4种无机氮源进行了对比试验,对添加豆饼粉、玉米秸秆、白酒糟、啤酒糟、麦芽根、菜籽饼、米糠、玉米粉、肉皮粉、高粱粉、棉籽饼和麸皮等12种农产品加工的副产品或废弃物进行了试验,确定了适宜苹果渣发酵生产饲料蛋白的配方。本试验最后选用的配方为:苹果渣70%,麸皮15%,棉籽饼15%,尿素、硫酸铵和过磷酸钙按原料总量的1.5%、2%和0.5%添加。通过试验,确定最佳发

在试验中看出:M23(白地霉)+M18(米根霉)和M23(白地霉)+M14(康宁木霉)两个组合的生长速度明显高于其它四种组合,其中M23+M18组合的生长速度又大于M23+M14组合。M23+M18组合在培养24h时即可看到无数个小菌落,到了第4d培养结束时整个基质被大量的黑色孢子所覆盖,M23+M14的生长速度次之,培养结束时基质呈均匀的白色。对上述6种菌种组合固体发酵产物的粗蛋白含量测定结果见表2。

酵条件为:水料比:8:10,pH:5~7,接种量:10~30%,接种比例:1:5~10,料层厚度:≤30mm(木通风条件下),培养温度28℃~30℃,培养时间4d,原料不灭菌处理。

应用所选菌种组合和原料配方,在所确定的发酵条件下进行发酵试验,其结果见表3。

表3 一般营养成分测定结果

项目	发酵原料(%)	发酵产品(%)	提高率(%)
粗蛋白	20.10	29.30	45.77
蛋白质	15.07	27.56	82.87
粗纤维	16.03	12.30	-23.27
粗脂肪	6.01	6.33	5.32
灰分	5.33	9.08	70.36
水分	6.23	6.35	

综上所述,通过筛选,选出了优良的菌种组合,在所确定的试验条件下,发酵产物的粗蛋白含量由20.10%提高到29.30%,提高45.77%,蛋白质含量由15.07%提高到27.56%,提高82.88%,粗纤维由16.03%降低到12.30%,降低了23.27%,产品得率超过83%。氨基酸测定结果还显示,多数氨基酸含量有显著提高;棉酚测定结果显示,棉酚含量降低幅度超过90%,并达

到了饲料安全标准,详细结果见另外的有关产品成分分析的论文。

参 考 文 献

[1] 王淑军,杨从发,蔺先明,等. 粮食与饲料工业. 1995. 11: 17~22.

[2] 徐坚平,刘均松,孔维,等. 微生物学通报. 1995. 22(4): 223~225.

[3] 张博润,刘伟平,刘玉方,等. 微生物学报. 1997. 37(4): 130~134.

[4] 徐立平,高孔荣. 食品与发酵工业. 1994. 2: 63~66.

[5] 王淑军,杨从发,蔺先明,等. 粮食与饲料工业. 1995. 11: 17~22.