

利用酒糟生产饲料蛋白的菌种选育^{*}

侯文华¹ 李政² 杨 力¹ 周 定³

(1 中国环境科学研究院, 北京 100012 2 北京轻工业学院, 北京 100037 3 哈尔滨工业大学, 哈尔滨 150006)

摘要 为了提高酒糟蛋白质的含量和粗纤维的降解, 本研究选择菌种 30 株, 以白酒糟为原料筛选出优质饲料蛋白菌株 8502, 8503 和 8505 三株. 用微生物液体发酵法, 经研究发现, 以 8503 和 8505 组成的多菌发酵体系, 使酒糟初始蛋白含量由 23.0%, 经 5d 发酵后, 提高到 37.5%, 比初始酒糟蛋白质含量提高了 14.5%, 粗纤维含量由初始的 16.3% 降为 14.1%, 比初始酒糟含量降低 2.2%. 在一定的试验条件下, 单菌发酵酒糟提高其粗蛋白含量最高达到 30.2%, 比初始酒糟蛋白质含量提高了 7.0%. 而多菌种协同发酵酒糟, 其蛋白质含量却提高到 37.5%, 高出单菌种发酵酒糟 7.3%, 提高了近 1 倍. 试验证明, 由 8503 和 8505 组成的多菌种发酵体系转化酒糟提高蛋白质的含量明显优于单一菌种.

关键词 酒糟, 废料再利用, 菌种选育, 饲料蛋白, 菌体蛋白, 协同发酵, 微生物饲料, 饲料蛋白.

Breeding of Bacteria Functioning to Produce Feed Proteins by the Use of Distillers' Grains^{*}

Hou Wenhua¹ Li Zhengyi² Yang Li¹ Zhou Ding³

(1 Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012

2 Beijing Institute of Light Industry, Beijing 100037 3 Harbin Institute of Technology, Harbin 150006)

Abstract High quality bacteria 8502, 8503 and 8505 were selectively bred. The study shows that the efficiencies to turn the distillers' grains into feed with rich protein by multiple bacteria synergistic fermentation are higher than those by single bacteria fermentation. Under definite experimental conditions, the efficiencies of multiple bacteria synergistic fermentation system are 7.3% higher than those of single bacteria fermentation system from 30.2% up to 37.5%, and the content of fiber is almost at the same level, about 2%. The distillers' grains have undergone fermentation for 5 days in the multiple bacteria synergistic fermentation system composed by 8503 and 8505. The protein raises from 23.0% of original wastes of distillers' grains up to 37.5%, 14.5% higher than that in original wastes, and the content of fiber is 2.2% less than original wastes, from 16.3% down to 14.1%.

Keywords distillers' grains, reuse of distillers' grains, breeding of bacteria, synergistic fermentation, microbial feed, feed protein.

将酒糟转化为单细胞蛋白饲料的菌种选育问题在国内外多有研究, 特别是前苏联和东欧一些国家研究得较多, 美国国家菌株种收集中心目前保存有上千株生化或是基因特性不同的 *Saccharomyces cerevisiae*, 属酵母菌, 再加上其他属菌种, 实际上可用作饲料添加剂的菌种数量很大^[1, 14, 15]. 近 10 几年来在我国陆续有研究论文^[1—13], 主要是利用酵母菌对白酒糟进行固态发酵转化为饲料蛋白的较多^[2—5], 对用于液态发酵同时兼顾固态发酵的多菌种协同发酵的菌种选育研究, 报道所见不多. 本研究选育出一组优质复合菌株, 利用它较大程度地提高了酒

糟的蛋白质含量, 同时对粗纤维也有一定程度的降解, 使酒糟这种污染环境的废物, 变成含高蛋白, 含较低纤维素, 并且氨基酸较齐全的饲料, 取得了可喜的成果.

1 材料和方法

1.1 菌种

热带假丝酵母菌、白地霉、康宁木霉、树状

^{*} 国家“八五”科技攻关项目(The National Key Science and Technology Project during The Eighth Five-year Plan Period)

侯文华: 男, 33 岁, 博士, 副研究员

收稿日期: 1998-06-16

酵母、绿色木霉、乳酸杆菌、担子真菌中选择 30 株菌,以酒糟为原料进行活化和培养皿圈筛选得白地霉 2 株(编号 8501 和 8503),绿色木霉 1 株(编号 8505)、树状酵母 1 株(编号 8502)、担子真菌 1 株(编号 8504)等,5 株具有较好利用酒糟的菌株为本试验用菌.

1.2 酒糟

山东景芝酒业股份有限公司白酒厂鲜酒糟的自然晒干物.

1.3 试验用培养基

(1) 麦芽汁琼脂 5 Be 麦芽汁, 1.5%—2.0% 琼脂, pH 自然, 1.05kg/cm², 灭菌 20min.

(2) 马铃薯培养基 去皮马铃薯 200g, 切成块加水 1000ml 煮沸 30min, 然后用纱布过滤, 再加葡萄糖 20g, 琼脂 20g, 溶化后补充水至 1000ml, 自然 pH, 分装, 1.05kg/cm², 灭菌 20min.

(3) 酵母菌培养基 酵母膏 1g, 碳酸钙 2g, 葡萄糖 2g, 琼脂 2g, 蒸馏水 100ml, 1.05kg/cm², 灭菌 20min.

(4) 酒糟浸取液培养基 50g 干酒糟加水 500ml 浸泡 4h, 过滤得浸取液, 加水至 1000ml, 调 pH 为 6.0, 加琼脂 20g, 加热溶化混匀后 1.05kg/cm², 灭菌 20min.

(5) 液体种子培养基 10g 干酒糟加 100ml 水, 浸泡 4h, 过滤后调 pH 为 5.5—6.0,

灭菌, 待用.

10g 干酒糟加 100ml 水, 浸泡 4h, 过滤后调 pH 为 5.5—6.0, 加 0.5g 硫酸铵, 灭菌, 待用.

1.4 试验方法

(1) 菌种的筛选 用初筛和复筛的方法进行, 初筛用培养皿培养观察的方法; 复筛用摇床培养, 然后测定粗蛋白和粗纤维.

(2) 摇床培养 100ml 水加 10g 干酒糟粉装于 500ml 三角瓶, 调 pH5.5—6.0, 120 灭菌 15min 冷却至室温, 分别按 5%(V/V) 接种各菌株的液体种子菌液(接种量/培养液), 置摇床上培养, 转速 170r/min. 温度设置 30.0 , 培养至所需时间. 培养完毕后, 离心分离(3500r/min) 菌体, 于 105 干燥得菌体饲料蛋白.

(3) 分析方法 粗蛋白, 粗纤维, 粗脂肪, 水分, Ca, P, 灰分, 氨基酸和氟, 本实验室测定项目的分析测定方法参见文献[2], 非本实验室测定均由国家饲料检测中心测定.

2 结果及分析

2.1 单菌株的选育

以粉碎后酒糟为原料, 选 8501, 8502, 8503, 8504 和 8505 为供试菌种, 用液态摇床发酵, 接种量 5%, pH5.5—6.0, 培养温度(30.0 ± 1.0) , 转速 170r/min, 发酵时间 5d, 结果见表 1.

表 1 单菌发酵实验结果/%

菌种代号	8501	8502	8503	8504	8505
发酵后酒糟粗纤维检测含量	16.70	15.02	14.07	17.00	16.90
发酵前酒糟粗纤维检测含量			16.30		
粗纤维降解百分率	- 0.40	1.28	2.23	- 0.70	- 0.60
发酵后酒糟粗蛋白检测含量	25.14	25.64	25.00	24.60	30.15
发酵前酒糟粗蛋白检测含量			23.0		
粗蛋白提高百分率	2.1	2.6	2.0	1.6	7.2

从表 1 的测定结果可见 8501, 8504, 8505 经 5d 发酵后, 粗纤维略有提高, 分别提高 0.4%, 0.7% 和 0.6%. 而 8502 和 8503, 分别降低 1.28% 和 2.23%, 显然 8503 显示出对粗纤维具有较好的降解. 从粗蛋白的提高来看, 显然 8505 号菌对粗蛋白的提高有明显的优势, 经过 5d 发酵, 使未发酵的初始酒糟(含粗蛋白 23%) 的粗蛋白提高了 7.2%, 达到 30.15%.

2.2 协同发酵多菌种组合体系的选育

从单菌种发酵实验的检测结果可见, 单菌种对酒糟蛋白质的提高有限, 对纤维素的降解能力较低. 为了使微生物充分利用酒糟中的碳源, 提高生物量, 并充分将氮源转化为菌体蛋白提高酒糟的真蛋白含量, 与此同时, 将纤维素获得较好的降解, 使用多菌种组合体系中各菌种的特性, 协同发酵酒糟得到很好的试验结果. 其

试验方法是,将酒糟过 10 目筛后粉碎,用氨水调 pH5.5—6.0,然后加入适量的碳源,装入 500ml 锥形瓶中,总量为 100ml,使酒糟含量为 10%,灭菌待用.按以上条件配制好的原料为第 1 组培养液.在以上配制条件的基础上再加入 0.5%的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,为第 2 组培养液.根据各菌种对蛋白含量的提高和粗纤维的降解能力,将其分为 2 组,第 1 组为 8502+ 8503+ 8505,第 2 组为 8503+ 8505.在第 1 组和第 2 组培养液中分别接种第 1 组和第 2 组组合菌种,接种量均为 5%,摇床培养,温度 (30.0 ± 1.0) ,转速 170r/min,培养时间 5d,试验检测结果见表 2.

表 2 多菌种协同发酵试验结果/%

测量项目	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]
粗纤维(发酵前)	16.1	16.1	16.1	16.1
粗纤维(发酵后)	15.16	15.03	15.10	14.05
粗蛋白(发酵前)	23.2	23.2	23.2	23.2
粗蛋白(发酵后)	33.34	36.0	35.40	37.50

1[#] 8502+ 8503+ 8505,接种于第 1 组培养液 2[#] 8502+ 8503+ 8505,接种于第 2 组培养液 3[#] 8503+ 8505,接种于第 1 组培养液 4[#] 8503+ 8505,接种于第 2 组培养液

由上述结果与单菌种发酵的结果对照与分析,可以明显地看到,多菌种协同发酵,蛋白质最低提高到 33.34%,最高提高到 37.50%,而单菌种(指 8502,8503,8505)发酵蛋白质最低提高到 25.0%,最高提高到 30.15%,可见多菌种发酵比单菌种发酵,蛋白质提高了 7.4%—8.3%.与发酵前的酒糟相比,蛋白质提高了 10.1%—14.3%.但粗纤维降解最高达到 2%,由此可见多菌种协同发酵较单菌种能充分利用酒糟中的碳源,氮源及有关营养物质,菌与菌之间协调补充,使粗蛋白比单菌种的粗蛋白有明显提高.再对比 2 菌系与 3 菌系的协同发酵结果,本试验的结果表明,8503 和 8505 组成的协同发酵体系就是一个优化的复合菌种体系,显示了协同的正效应.从第 1 组培养液与第 2 组培养的对照比较可见,第 2 组培养液(2[#]、4[#])培养后的测试结果均优于第 1 组培养液(1[#]、3[#]),这说明在培养时增加一些硫酸铵对蛋白质的提高有利.

3 小结

(1) 在相同试验条件下,经单菌发酵后,酒

糟蛋白质含量由 23%(初始酒糟含量)提高到 30.15%(8505 单菌发酵酒糟后含量),提高了 7.2%.而多菌体系发酵后,酒糟蛋白质含量由 23%(初始酒糟含量)提高到 37.5%(8503+ 8505 接种于第 2 组培养液中测定结果).较单菌发酵又提高了近 7.4%.多菌种体系与单菌对粗纤维含量的降低基本相同,均为 2%左右.

(2) 由 8503 和 8505 2 菌种组成的协同发酵体系优于 8502、8503 和 8505 3 菌种组成的发酵体系.8503 和 8505 组成的多菌发酵体系为本研究的优质菌种体系,在本研究的试验条件下,经 5d 发酵,粗蛋白含量比原酒糟提高 14.3%,粗纤维比原酒糟降低 2%.

参 考 文 献

1 张宏福. 酵母饲料的研究现状及发展方向. 中国饲料, 1994, (7): 11

2 中国饲料工业办公室编. 饲料标准汇编(1). 北京: 中国标准出版社, 1991. 268—288

3 刘厚福等. 开发利用白酒糟的新工艺. 中国饲料, 1993, (7): 16—17

4 安登第等. 酒糟饲料开发利用的新方法. 饲料工业, 1994, 15(12): 18—19

5 陈学林, 李佳等. 酒糟菌体蛋白饲料的开发与研究. 饲料研究, 1994, (10): 7—9

6 王敏. 资中县酒糟及其废液的开发利用. 四川畜牧兽医, 1994(4): 19—21

7 刘新照. 利用酒糟生产单细胞蛋白饲料. 中国酿造, 1994, (1): 12—13

8 张守一. 以酒糟为原料生产活性蛋白饲料. 酿酒, 1994, (1): 63—64

9 赵守贤. 酒糟生物蛋白饲料的研制及其饲喂效果. 中国饲料, 1996, (1): 29—30

10 李延云. 酒精糟液饲料化处理的综合评价. 饲料工业, 1996, 17(10): 1—3

11 王以强. 利用酒糟加工单细胞蛋白饲料初探. 食品工业, 1996, (4): 36, 44

12 李义海. 酒糟及其废液的微生物处理技术. 饲料研究, 1993, (11): 16—18

13 韩文理. 大曲酒厂酒糟的综合利用研究. 食品科学, 1991, (5): 22—23

14 程园等. 酒糟资源的开发利用和营养价值. 中国饲料, 1990, (2): 21—22

15 Per di H A, Cimerman A et al. Bioconversion of fruit distillery wastes. Enzyme Microb. Technol., 1991, 13 (10): 848—852

16 Moo- Young, Murray, Chisti Y, Vlach D. Fermentation of cellulosic materials to mycoprotein foods. Biotechnol. Adv., 1993, 11(3): 469—479