

纤维素酶与多菌种共酵生产大曲丢糟饲料的研究

李新社¹, 何红梅², 陆步诗¹, 吴亮¹

(1.邵阳学院 生物与化学工程系, 湖南 邵阳 422000; 2.长沙市蔬菜食品质量安全检测中心, 湖南 长沙 410001)

摘要: 大曲丢糟为主要原料, 利用纤维素酶为催化剂, 绿色木霉和白地霉为生产菌进行丢糟发酵, 采用 L₉(3⁴) 4 因子 3 水平正交试验。得到的最佳工艺条件为: 纤维素酶添加量 0.02%, 绿色木霉 白地霉为 1:9, 在 28℃ 下培养 5 d。得到的饲料营养丰富, 粗蛋白含量达 22.5%。

关键词: 综合利用; 丢糟; 饲料; 纤维素酶; 多菌种共发酵

中图分类号: S816; TQ920; X797

文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2008)09-0099-02

Study on Feedstuff Production by Cellulase and Multi- strains Co-fermentation with Distiller's Grains of Daqu as Raw Materials

LI Xin-she¹, HE Hong-mei², LU Bu-shi¹ and WU Liang¹

(1. Department of Biology and Chemistry Engineering, Shaoyang College, Shaoyang, Hunan 422000; 2. Security Quality of Vegetable and Food Test Center of Changsha, Changsha, Hu'nan 410001, China)

Abstract: The distiller's grains of Daqu was used as raw materials to produce feedstuff by co-fermentation of green wooden mould and *Geotrichum candidum* link with cellulase as catalyst. The optimum technical conditions were determined as follows through L₉(3⁴) orthogonal test: 0.02% addition level of cellulase, the ratio of green wooden mould and *Geotrichum candidum* link was 1:9, and 5 d culture at 28℃. The produced feedstuff has rich nutritions (the content of crude protein reaches at 22.5%).

Key words: comprehensive utilization; distiller's grain; feedstuff; cellulase; multi-strains co-fermentation

丢糟, 又称扔糟, 是续糟发酵法酿造白酒时的副产品, 数量约为产酒量的 4 倍^[1]。由于其含水量高达 60%~65%, 难于干燥、贮存, 加上它的干物质中稻壳含量高达 60%~65%, 难于处理^[2]。因此, 一直以来未得到合理有效的利用。

本研究以纤维素酶为催化剂, 通过木霉与白地霉的混合发酵生产单细胞蛋白饲料, 旨在为丢糟的综合利用探索一条新的途径。

1 材料与方 法

1.1 材 料

丢糟: 湖南邵阳市酒厂大曲车间提供。

菌种: 绿色木霉 (Green wooden mould) GIM 3.139、白地霉 (*Geotrichum candidum* link) GIM 2.69 由广东微生物研究所菌种保存中心提供。

试剂: 均为市售分析纯商品。

1.2 仪 器 和 设 备

生化培养箱、高压蒸汽灭菌锅、超净工作台、分析天平。

1.3 培 养 基

综合马铃薯培养基^[3]: 用于绿色木霉的活化及扩大培养。

麦芽汁培养基^[3]: 用于白地霉的活化及扩大培养。

丢糟培养基: 以丢糟作为原料, 适当添加无机盐。

1.4 试 验 方 法

1.4.1 测 定 方 法

水分的测定: 恒重法^[4]。

总酸的测定: 酸碱滴定法^[4] (以醋酸计)。

粗纤维的测定: 酸碱处理法^[5]。

总氮的测定: 凯氏定氮法^[4]。

还原糖的测定: 直接滴定法^[4] (以葡萄糖计)。

1.4.2 操 作 要 点

1.4.2.1 菌 种 活 化

绿色木霉活化: 综合马铃薯固体培养基 倒入斜面试管 灭菌 接种 培养 (28℃, 3 d); 白地霉活化: 麦芽汁固体培养基 倒入斜面试管 灭菌 接种 培养 (30℃, 3 d)。

基金项目: 湖南省教育厅资助科研项目 编号 04C606。

收稿日期: 2008-06-03

作者简介: 李新社 (1965-), 女, 湖南邵阳人, 副教授, 主要从事应用微生物教学与研究工作。

1.4.2.2 菌种的扩大培养

绿色木霉的扩大培养:综合马铃薯液体培养基 分装三角瓶 灭菌 接种(3次活化种) 培养(于 28 , 3 d);白地霉的扩大培养:麦芽汁液体培养基 分装三角瓶 灭菌 接种(二次活化种) 培养(30 , 3 d)。

1.4.2.3 种子的驯化

按以下培养基的成分进行种子的驯化:麸皮与丢糟的比例分别依次为 9 1、7 3、5 5、3 7、1 9 进行发酵种子驯化培养。

1.4.2.4 丢糟的发酵试验

用丢糟作为培养基(置于三角瓶中,补充少量蔗糖、KCl、MgSO₄、NaNO₃、K₂HPO₄ 和 FeSO₄, 用石灰水调节 pH), 灭菌, 接种, 发酵, 成分检测。

2 结果与分析

2.1 发酵前丢糟成分的检测

在发酵前对丢糟的水分、总酸、还原糖、粗纤维和粗蛋白进行检测, 结果见表 1。

表 1 丢糟成分的检测结果 (%)

项目	水分	总酸	还原糖	粗纤维	粗蛋白
结果	64	3.66	1.33	16.28	8.30

2.2 最佳生产工艺条件的确定

以纤维素酶添加量、绿色木霉和白地霉的比例、培养温度和培养时间作为 4 个变量, 进行 4 因素 3 水平的 L₉(3⁴)^[7] 正交试验(见表 2)。通过检测还原糖和氮的含量, 确定最佳发酵条件, 结果见表 3。

表 2 L₉(3⁴) 正交试验设计

因子	水平 1	水平 2	水平 3
A: 纤维素酶添加量 (%)	0.01	0.02	0.03
B: 绿色木霉: 白地霉	5:5	3:7	1:9
C: 培养温度 (°C)	28	30	32
D: 培养时间 (d)	5	7	9

由表 3 可知, 试验 A₂B₃C₁D₁ 为最佳组合, 即利用酶制剂降解与双菌种固态发酵生产丢糟饲料的最佳工艺条件: 纤维素酶添加量 0.02%, 绿色木霉 白地霉为 1 9, 在 28 下培养 5 d。极差值 R_B> R_C> R_A> R_D, 主次因素 B> C> A> D。这说明, 在实际生产中要严格控制绿色木霉和白地霉的比例、培养温度、纤维素酶添加量和培养时间, 以保证饲料的营养适合动物的生长需要。

2.3 发酵前后丢糟成分的比较

在最佳水平条件下获得的丢糟饲料与未经发酵的丢糟进行粗蛋白和还原糖的比较, 检测结果见表 4。

表 3 正交试验结果

组别	因子				考查 (%)		
	A	B	C	D	还原糖	总氮	Ti
1	1	1	1	1	2.23	20.8	23.03
2	1	2	2	2	2.34	16.4	18.74
3	1	3	3	3	2.41	21.1	23.51
4	2	1	2	3	2.67	14.8	17.47
5	2	2	3	1	2.84	22.3	25.14
6	2	3	1	2	2.73	21.5	24.23
7	3	1	3	2	2.59	13.9	16.49
8	3	2	1	3	2.76	17.6	20.36
9	3	3	2	1	2.62	21.2	23.82
K ₁	65.28	56.99	67.62	71.99	Tr23.19	169.6	
K ₂	66.84	64.24	60.03	59.47	T192.79		
K ₃	60.67	71.56	65.14	61.34			
R	4.61	7.25	5.11	1.87			

表 4 发酵前后丢糟成分的比较 (%)

发酵期	粗蛋白	还原糖
发酵前	8.30	1.33
发酵后	22.5	2.86

从表 4 可看出, 经发酵后丢糟饲料的粗蛋白和还原糖的含量有显著提高, 这表明, 发酵后丢糟的营养价值更高且更适合动物的营养需要。

3 结论

酶制剂在大曲丢糟双菌种固态发酵生产饲料的最佳工艺条件为: 纤维素酶添加量 0.02%, 绿色木霉 白地霉为 1 9, 在 28 下培养 5 d。丢糟添加酶制剂后经过双菌种固态发酵, 其粗蛋白质含量从发酵前的 8.3% 提高到 22.5%, 还原糖含量由 1.33% 上升到 2.86%, 营养价值更高, 营养结构更合理, 可作为一种重要的饲料蛋白资源, 具有明显的经济效益、社会效益和生态效益。

参考文献:

- [1] 陈陶声. 发酵工业辞典[M]. 北京: 轻工业出版社, 1991.11-15.
- [2] 四川省水稻高粱研究所, 泸州曲酒厂. 曲酒丢糟的利用研究[J]. 酿酒, 1989, (6): 28-33.
- [3] 黄秀梨, 夏立秋. 微生物学试验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1996.36-69.
- [4] 蔡定域. 酿酒工业分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1988.160-180.
- [5] 王福荣. 生物工程分析与检验[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.114-120, 188-220.
- [6] 钟平安. 生物统计学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1983.304-310.