

发酵白酒糟生产饲料蛋白的优良菌种的筛选*

张博润 刘伟平 刘玉方 李标文** 陈玉梅

(中国科学院微生物研究所 北京 100060)

摘要 采用常规方法从 1000 多株菌(包括丝状真菌、酵母菌、链霉菌、细菌)中筛选到一批优良菌种,并进行了单菌发酵、多菌株组合发酵,不同原料配方发酵试验。在实验室条件下,发酵产物的粗蛋白含量高达 35.9%,比原料本身的粗蛋白含量高 50% 以上,比所用培养基的粗蛋白含量高 30%。发酵产物的粗纤维含量降低率为 15%;粗脂肪含量为 5.5% 左右;产率达 80% 以上。结果证明,筛选到的菌株确是发酵白酒糟生产饲料蛋白的优良菌种。

关键词 饲料蛋白,白酒糟,发酵,菌种的筛选

我国每年约有 3000 万吨以上白酒糟,对白酒糟的综合利用问题一直未能很好解决。一些酒厂将白酒糟视为废物,不仅造成资源浪费,又污染环境;一些酒厂则以低廉价格将酒糟卖给农民作肥料或饲料。而我国是一个饲料(尤其是蛋白饲料)严重短缺的大国,每年需从国外进口大量的鱼粉蛋白填补不足。近年来,有关研究人员对利用白酒糟生产饲料蛋白作了一些研究^[1~4],但对其优良菌种的系统研究尚未见报道。国家将饲料蛋白的开发研究列为“八五”攻关课题。本文报道发酵白酒糟生产饲料蛋白的优良菌种的筛选结果。

1 材料和方法

1.1 菌种

以本实验室收集保藏的 1000 多株菌(包括丝状真菌、酵母菌、链霉菌、细菌)为实验原始菌种。

1.2 培养基

1.2.1 YEPD 培养基^[5]。

1.2.2 麦芽汁培养基。

1.2.3 LB 固体培养基^[5]。

1.2.4 PDA 培养基^[5]。

1.2.5 固体发酵培养基(%)：白酒糟(山东,下同) 8,琼脂粉(国产) 2,自然 pH 值。

1.2.6 固体发酵培养基 I (%)：白酒糟 100,自来水 80,自然 pH 值。

* 本课题为国家“八五”攻关项目。

** 北京化工大学生化工程系九二级学生。

固体发酵培养基 II (%): 白酒糟 80, 麸皮 20, 自来水 80, 自然 pH 值。

固体发酵培养基 III (%): 白酒糟 80, 麸皮 20, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2, 自来水 80, 自然 pH 值。

固体发酵培养基 IV (%): 白酒糟 80, 麸皮 15, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2, 葡萄糖 2, 微量元素 1, 自来水 80, 自然 pH 值。

1.3 筛选方法

待测菌 → 初筛 → 复筛 → 单菌发酵 → 多菌组合发酵 → 原料配方试验 → 优良菌种。

1.4 分析方法

1.4.1 水份测定^[6]。

1.4.2 粗蛋白含量分析^[7]。

1.4.3 粗纤维含量分析^[6]。

1.4.4 粗脂肪含量分析^[6]。

1.4.5 灰份测定^[6]。

2 结果和讨论

2.1 原料成份分析

为进行优良菌种的选育和原料配方优化组合提供可靠数据和理论依据, 对不同来源的白酒糟烘干后进行了水份含量、粗蛋白含量、粗纤维含量、粗脂肪含量等分析, 经重复测定, 结果列于表 1。

表 1 不同来源的白酒糟成份分析

Table 1 Analysis of contents of different distiller's grains (%)

酒糟来源 Source	干物质 Dry material	粗蛋白 Raw protein	粗纤维 Raw cellulose	粗脂肪 Raw fat	灰份 Raw ash
山东 Sandong	91.7	23.5	25.6	10.5	10.1
北京 Beijing	92.3	18.7	24.4	10.2	10.5
内蒙古 Neimongol	91.8	17.8	22.1	9.1	9.7

2.2 发酵白酒糟生产饲料蛋白的优良菌种的筛选

2.2.1 初筛: 以白酒糟为唯一底物, 加琼脂粉制成固体培养基, 采用平皿点样筛选法, 对收集保藏的 1000 多株菌 (包括丝状真菌、酵母菌、链霉菌、细菌) 进行初筛。挑出在以白酒糟为唯一底物的平皿上生长良好的菌 80 余株 (其中丝状真菌 46 株、酵母菌 30 株、链霉菌 2 株、细菌 4 株) 供下一步筛选研究用。

2.2.2 复筛: 以白酒糟为唯一底物, 加 0.8 体积 (V/V) 自来水配制成固体培养基, 分别接种初筛选出的 80 余株菌, 28℃ 静止培养 2 ~ 4 d, 观察结果。经重复试验, 选出在该培养基上生长良好的菌 50 余株 (其中丝状真菌 32 株、酵母菌 20 株、细菌 4 株,

编号为 Z-1 ~ Z-56)。

2.2.3 单菌固体发酵试验:以白酒糟为唯一底物,加 0.8 体积 (V/V) 自来水配制成固体培养基。将以上筛选出的 50 余株菌活化,接种一环到装有 3 ml 麦芽汁的小试管中,28 ℃ 摇床 (转速为 220 r/min) 培养 20 ~ 24 h,以 10% 接种量接种于白酒糟固体培养基,30 ℃ 静止培养 3 d,在 60 ℃ 烘干,测定水份和粗蛋白含量,部分结果见表 2。

表 2 不同菌株发酵以白酒糟为唯一底物的产物分析

Table 2 Analysis of products of distiller's grains as alone substrate fermented by different strains (%)

菌株 Strains	发酵产物 Fermented products	
	水份 Watery	粗蛋白 Raw protein
对照 (CK)	8.3	23.5
Z-4	5.2	26.0
Z-6	8.4	24.7
Z-9	7.3	25.0
Z-11	8.6	25.0
Z-14	8.4	25.1
Z-18	4.8	25.0
Z-20	5.4	26.1
Z-30	5.1	24.4
Z-38	9.2	26.0
Z-45	8.1	26.4
Z-48	8.4	25.4

2.2.4 原料配方试验:根据白酒糟成份及初步筛选的不同菌株的特性,设计了不同原料配方 (见材料和方法) 进行固体发酵试验。从以上筛选的菌株中挑出 11 株菌,活化后接种一环到装有 3 ml 麦芽汁的小试管中,28 ℃ 摇床 (转速为 220 r/min) 培养 20 ~ 24 h,以 10% 接种量接种于不同固体发酵培养基,30 ℃ 静止培养 3 d,在 60 ℃ 烘干,测定发酵产物的水份和粗蛋白含量,试验结果见表 3。

2.2.5 多菌株优化组合发酵试验:依据上述研究选出的菌株和原料配方,同时考虑到成本和今后实际推广应用,选用固体发酵培养基 III 进行不同菌株优化组合发酵试验,部分实验结果参见表 4。

综上所述,通过不同菌种初筛、复筛、单菌发酵试验、原料配方试验及多菌株优化组合条件试验,已筛选到 7 株发酵白酒糟生产饲料蛋白的优良菌种,在实验室条件下,发酵产物的粗蛋白含量高达 35.9%,比原料本身的粗蛋白含量 23.5% 提高 50% 以上,比所用培养基的粗蛋白含量 27.5% 提高 30%;发酵产物的粗纤维含量降低率为 15%;粗脂肪含量为 5.7%;产率达 80% 以上。对于优良菌种发酵白酒糟生产饲料蛋白的培养优化条件、产物的系统分析等将另文报道。

表3 不同菌株对不同配方固体发酵培养基发酵试验结果

Table 3 Results of fermentation tests of different media by different strains (%)

菌株 Strains	培养基 Media							
	I		II		III		IV	
	发酵产物 Fermented products							
	水份 Watery	粗蛋白 Raw protein	水份 Watery	粗蛋白 Raw protein	水份 Watery	粗蛋白 Raw protein	水份 Watery	粗蛋白 Raw protein
对照 CK	7.4	23.6	6.9	24.8	8.5	27.4	7.8	27.7
Z-4	7.7	26.0	7.3	28.6	7.6	31.0	7.8	31.9
Z-6	6.8	24.8	7.2	27.0	7.8	30.2	7.5	31.0
Z-9	8.3	24.9	7.5	27.2	8.4	30.5	7.6	31.4
Z-11	8.8	24.9	4.5	27.5	8.1	30.8	8.0	31.4
Z-14	7.1	25.2	7.5	27.6	8.4	30.9	8.1	31.5
Z-18	6.7	25.0	7.5	27.0	8.2	29.8	8.4	30.8
Z-20	6.9	26.4	7.8	28.4	8.5	30.4	7.8	31.9
Z-30	6.4	24.5	7.5	27.7	8.3	29.7	7.6	30.3
Z-38	7.5	26.0	7.4	28.5	8.2	29.9	8.4	31.4
Z-45	7.8	26.6	7.6	28.4	7.6	31.1	7.6	31.8
Z-48	7.5	25.7	7.7	28.0	8.3	30.8	7.6	31.5

表4 多菌株优化组合发酵产物分析*

Table 4 Analysis of fermented products by various strains combination (%)

菌株组合 Strains combination	干物质 Dry material	粗蛋白 Raw protein	粗纤维 Raw cellulose	粗脂肪 Raw fat	灰份 Raw ash	产率 Productive
对照 CK	92.1	27.5	25.7	10.3	10.0	100
Z-4 Z-20 Z-9	92.5	35.8	20.6	5.5	10.2	78
Z-4 Z-20 Z-14	93.4	35.9	20.5	5.7	11.0	81
Z-4 Z-20 Z-48	92.7	35.8	20.7	5.6	10.2	81
Z-45 Z-38 Z-9	92.8	35.7	20.6	5.3	10.5	80
Z-45 Z-38 Z-14	93.3	35.6	20.8	5.5	10.3	80
Z-45 Z-38 Z-48	93.5	35.7	20.7	5.6	10.2	80

* Z-4、Z-45是白地霉 (*Geotrichum candidum*); Z-9是树状假丝酵母 (*Candida arborea*); Z-14是热带假丝酵母 (*Candida tropicalis*); Z-20是木素木霉 (*Trichoderma ignorum*); Z-38是康宁木霉 (*Trichoderma koningii*); Z-48是植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)。

参 考 文 献

[1] 陈学林, 李 浩, 张余盛. 饲料研究, 1994, 10: 7~9.

- [2] 丁兆森. 工业微生物, 1991, 21 (2): 33 ~ 36.
[3] 张守一, 张玉华, 李春波. 酿酒, 1994, 1: 63 ~ 64.
[4] 李义海. 饲料研究, 1993, 11: 16 ~ 18.
[5] 贾盘兴等编著. 微生物遗传学实验技术. 北京: 科学出版社, 1992.
[6] 张永惠, 陈 骅. 造纸工业化学分析. 北京: 轻工业出版社, 1961.
[7] 北京大学生物系生物化学教研室编. 生物化学实验指导. 北京: 人民教育出版社, 1979.

THE SCREENING OF THE STRAINS OF DISTILLER'S GRAINS TO PRODUCE FEEDING-PROTEINS

Zhang Borun Liu Weiping Liu Yufang Li Biaowen Chen Yumei

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080*)

Abstract A number of strains producing feeding-proteins from distiller's grains were obtained from more than 1000 strains (include fungi, yeasts, streptomycetes and bacteria) using conventional screening methods. The experiment for single strain fermentation, various strains combination, different media composition were carried out. Under the condition of the laboratory, the content of raw protein of fermentative product reached 35.9%, it was 50% and 30% higher than the distiller's grains and the medium used respectively. 15% of the content of raw cellulose was reduced. The content of raw fat was about 5.5%. The productive rate was up to 80%. The results showed that the strains obtained are good ones to produce feeding-proteins from fermentation of distiller's grains.

Key words Feeding-protein, Distiller's grains, Fermentation, Screening