

# 发酵白酒糟生产饲料蛋白的培养条件及产物分析\*

张博润 刘玉方 何秀萍 刘伟平 陈玉梅

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

**摘要** 利用白地霉(*Geotrichum candidum*) Z-4、热带假丝酵母(*Candida tropicalis*) Z-14和木素木霉(*Trichoderma lignorum*) Z-20三株菌混合发酵白酒糟生产饲料蛋白的培养基成分为白酒糟90%、麦芽根粉10%、尿素2%，原料：水 = 1:0.8，pH6.0，接种量10%，培养温度28~30℃，培养周期3d。分析结果表明，发酵产物营养丰富，粗蛋白含量高达32.1%，氨基酸含量齐全，脂肪含量为5.6%，维生素B<sub>1</sub>和B<sub>2</sub>的含量分别为2.2mg/kg和52.6mg/kg。具有较高的纤维素酶、半纤维素酶及淀粉酶活性。

**关键词** 饲料蛋白，白酒糟，培养条件，产物分析

我国是白酒生产大国，每年的年产量以惊人的速度增长，每年约产3 000万t以上白酒糟，由于白酒糟水分大，酸度高，易腐烂变质，不易保管和运输，且相当部分的酒糟中含有50%左右难于消化的稻壳。只有一部分白酒糟用作饲料或肥料，大部分视为废物，既是惊人的资源浪费，又造成环境污染。美国和亚洲的一些国家对酒糟资源开发进行了较为系统的研究。国内一些研究单位或厂家对利用白酒糟生产饲料蛋白作了一些研究<sup>[1-4]</sup>。前文报道了发酵白酒糟生产饲料蛋白的优良菌种的筛选结果<sup>[5]</sup>。本文报道发酵白酒糟生产饲料蛋白的培养条件及发酵产物的分析结果。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌种

白地霉(*Geotrichum candidum*) Z-4，热带假丝酵母(*Candida tropicalis*) Z-14，木素木霉(*Trichoderma lignorum*) Z-20，均为本组保藏菌种。

### 1.2 培养基

YEPD培养基<sup>[6]</sup>；麦芽汁培养基；固体发酵培养基A(%)：白酒糟(山东，下同)90、麸皮10、尿素2，原料：水 = 1:0.8，自然pH值。固体发酵培养基B~E：分别用等量菜籽饼、棉籽饼、麦芽根粉、豆饼粉取代麸皮，其余成分同A。

### 1.3 培养方法

斜面菌种→活化→接种→一环到装有5ml麦芽汁的大试管中，28℃摇床(转速为220r/min)培养20h→以5%接种量接种于装有40ml麦芽汁的三角瓶中，28℃摇床培养20h，将三种菌液按1:1:1比例混和，以5%接种量接入固体发酵培养基，28℃静止培养72h→

\* 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李标文、胡智锋参加部分实验。

本文于1996年3月20日收到。

45℃烘干,供分析测定用。

## 1.4 分析方法

水份、粗纤维含量、粗脂肪含量、灰份等的测定<sup>[7]</sup>;粗蛋白含量分析<sup>[8]</sup>;酶活性测定<sup>[9]</sup>;氨基酸组分及含量分析,由本所生物技术中心采用 Beckman6300 高效氨基酸分析仪分析测定;系统分析由国家饲料质量监督检验中心(北京)分析测定。

## 2 结果

### 2.1 培养条件对发酵产物粗蛋白含量的影响

**2.1.1 不同培养基的影响:**在研究以白酒糟为主原料发酵生产饲料蛋白时,普遍采用加 10%~20% 麸皮、0.5%~2% 硫酸铵(或尿素)和微量元素。为了降低成本,便于推广和生产,我们选用了五种固体发酵培养基进行了比较。从表 1 可以看出,添加不同农副产品对发酵产物的粗蛋白含量影响不大,考虑到成本及实际应用,确定用固体发酵培养基 D 进行以下的研究。

表1 不同培养基的影响

Table 1 Effect of different media

培养基 Media	发酵产物 Fermented products	
	水份 Watery(%)	粗蛋白 Crude protein(%)
A: 白酒糟90%+麸皮10%+尿素2% Distiller's grain+Wheat bran+Urea	9.2	31.5
B: 白酒糟90%+菜籽饼10%+尿素2% Distiller's grain+Rapeseed cake+Urea	8.7	31.7
C: 白酒糟90%+棉籽饼10%+尿素2% Distiller's grain+Cottonseed cake+Urea	8.7	31.6
D: 白酒糟90%+麦芽根粉10%+尿素2% Distiller's grain+Barley malt-root flour+Urea	9.0	31.4
E: 白酒糟90%+豆饼粉10%+尿素2% Distiller's grain+Soybean cake+Urea	8.5	31.8

**2.1.2 不同氮源及用量的影响:**采用固体发酵培养基 D,添加不同浓度的硫酸铵/尿素进行发酵培养试验,结果表明不同浓度的硫酸铵/尿素对发酵产物的粗蛋白的含量影响较大(图 1-A)。综合成本和产物的粗蛋白含量等因素考虑,以添加 2% 尿素为佳。

**2.1.3 培养基的不同起始 pH 的影响:**由于使用的菌株不是单一菌株,而是三株菌,包括白地霉、木素木霉及假丝酵母,它们生长的最适 pH 有所差异。为此,我们选取不同起始 pH 的固体发酵培养基 D 进行固体发酵试验,并测定其产物的粗蛋白含量,结果见图 1-B。这三株菌混合发酵白酒糟的最适 pH 为 6.0。

**2.1.4 不同接种量的影响:**采用 pH 为 6.0 的固体发酵培养基 D,进行了不同接种量的发酵实验,并对产物的粗蛋白含量进行了分析,以 10% 接种量为宜。

**2.1.5 培养时间的影响:**采用 pH 为 6.0 的固体发酵培养基 D,接种量为 10%,28℃ 静止培养,不同时间取样测定产物粗蛋白含量,结果见图 1-C。培养 5d 时产物的粗蛋白含量最高,达 35.8%,综合成本和设备利用率等因素考虑,培养时间以 3d 为佳。

依据上述实验结果,初步确定了发酵白酒糟生产饲料蛋白的培养条件:培养基组分

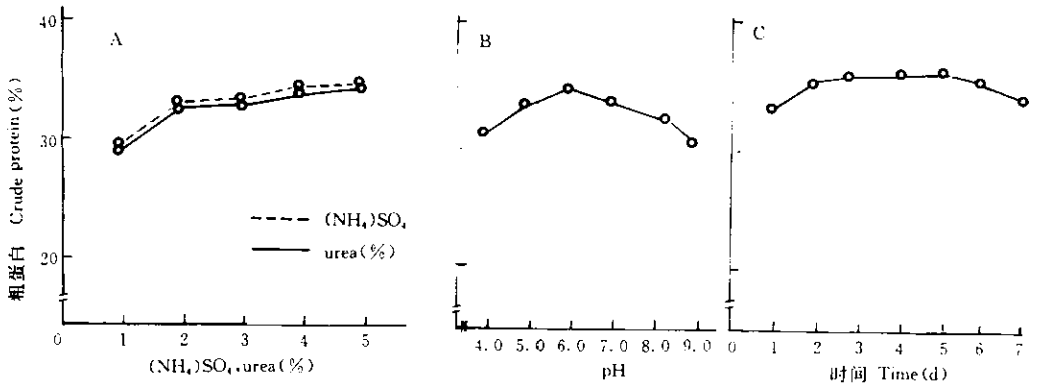


图1 不同发酵条件对发酵产物的粗蛋白含量的影响

Fig.1 Effects of the fermentation conditions on the content of crude proteins of fermented products

为: 白酒糟 90%、麦芽根粉 10%、尿素 2%、原料: 水 = 1:0.8, pH6.0, 接种量 10%, 培养温度 28~30℃, 培养周期 3d, 45℃ 烘干。按此培养条件进行了小试实验。

## 2.2 小试发酵产物的分析

### 2.2.1 发酵产物的成分分析: 结果见表 2。

表2 发酵产物及白酒糟的成分分析

Table 2 Analysis of contents of the fermented products and the distiller's grain

项目 Item	干物质 Dry material (%)	粗蛋白 Crude protein (%)	粗纤维 Crude cellulose (%)	粗脂肪 Crude fat (%)	灰份 Crude ash (%)
白酒糟 Distiller's grain	91.5	23.4	25.5	10.6	9.7
发酵产物 Fermented products	91.6	35.1	20.7	5.6	10.1

表3 发酵产物和白酒糟的主要氨基酸含量\*

Table 3 Contents of main amino acids of the fermented products and the distiller's grains\*

氨基酸 Amino acid	白酒糟 Distiller's grains (mg/g)	发酵产物 Fermented products (mg/g)	氨基酸 Amino acid	白酒糟 Distiller's grains (mg/g)	发酵产物 Fermented products (mg/g)
Met	2.54	3.10	Asp	14.84	9.89
Thr	8.34	10.46	Ile	9.76	11.42
Ser	9.95	12.82	Leu	28.63	30.90
Glu	49.89	59.22	Tyr	9.66	9.97
Pro	20.59	22.59	Phe	11.21	12.59
Gly	8.29	10.38	His	4.55	5.29
Ala	21.47	23.37	Lys	4.92	7.02
Val	11.50	14.10	Arg	6.85	9.96

\*: 未测定色氨酸、胱氨酸含量。

Note: No analysed the contents of Trp and Cys.

### 2.2.2 发酵产物的半纤维素酶、纤维素酶及淀粉酶等含量分析: 按材料和方法中所述,

对发酵产物进行了酶活性测定, 结果表明每克发酵产物含 1765u 半纤维素酶、1024u 纤维素酶和 1800u 淀粉酶。

**2.2.3 发酵产物和白酒糟的主要氨基酸组成及含量分析:** 结果见表 3。发酵产物的氨基酸含量普遍比白酒糟的氨基酸含量高。

**2.2.4 发酵产物及白酒糟的系统分析:** 为了估价发酵产物的营养价值, 有无有毒成分, 由国家饲料质量监督检验中心(北京)对发酵产物和白酒糟进行了系统分析测定(表 4)。

表 4 白酒糟及其发酵产物的系统分析

Table 4 The systematic analysis of the fermented products and the distiller's grains

项目 Item	白酒糟 Distiller's grains	发酵产物 Fermented products
粗蛋白 Crude protein (%)	21.600	32.100
粗纤维 Crude cellulose (%)	18.500	10.580
粗灰分 Crude ash (%)	9.220	9.120
水分 Watery (%)	4.430	2.220
维生素 B <sub>1</sub> Vitamin B <sub>1</sub> (mg/100g)	1.500	2.200
维生素 B <sub>2</sub> Vitamin B <sub>2</sub> (mg/100g)	14.400	52.600
钙 Calcium (%)	0.103	0.123
磷 Phosphorus (%)	0.278	0.456
铅 Lead (mg/kg)	2.600	2.600
砷 Arsenic (mg/kg)	0.380	0.350
黄曲霉毒素 B <sub>1</sub> Flavus-toxin B <sub>1</sub> (μg/kg)	No	No
氟 Fluorine (mg/kg)	10.400	10.400

### 3 讨论

通过发酵条件实验, 初步确定了三株菌(白地霉 Z-4, 热带假酵母 Z-14 及木素木霉 Z-20)混合固体发酵白酒糟生产饲料蛋白的培养条件: 培养基组分为白酒糟 90%、麦芽根粉 10%、尿素 2%, 原料: 水 = 1:0.8, pH6.0, 接种量 10%, 培养温度 28~30℃, 培养周期 3d。

通过对发酵产物的分析表明, 发酵产物的粗蛋白达 32.10%, 氨基酸含量齐全, 脂肪含量为 5.6%, 维生素 B<sub>1</sub> 和维生素 B<sub>2</sub> 的含量分别为 2.2mg/kg 和 52.6mg/kg, 具有较高的半纤维素酶、纤维素酶、淀粉酶活性。

将我们实验室对发酵产物和白酒糟的分析结果与国家饲料质量监督检验中心的分析结果比较, 发现有的数据差异较大, 尤其是粗纤维含量, 这主要归因于采用的测定方法不同。

本研究结果表明, 选用优良微生物菌种在优化条件下混合固体发酵酒糟生产饲料蛋白, 具有原料广泛、生产成本低、经济效益高和生产工艺简单等特点, 既能有效的利用资源, 又能治理环境污染, 变废为宝, 因而具有重要的社会效益和经济效益, 具有广阔的应用前景。

### 参 考 文 献

[1] 丁兆森. 工业微生物, 1991, 21(2): 33-36.

- [2] 李义海. 饲料研究, 1993, 11: 16~18.
- [3] 陈学林, 李浩, 张余盛. 饲料研究, 1994, 10: 7~9.
- [4] 张守一, 张玉华, 李春波. 酿酒, 1994, 1: 63~64.
- [5] 张博润, 刘伟平, 刘玉方, 等. 微生物学报, 1997, 37(2): 130~134.
- [6] 贾盘兴, 蔡金科, 马德钦, 等. 微生物遗传学实验技术. 北京: 科学出版社, 1992. 407.
- [7] 张永惠, 陈 骅. 造纸工业化学分析. 北京: 轻工业出版社, 1961.
- [8] 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学实验指导. 北京: 人民教育出版社, 1979.
- [9] 应用微生物展览汇编. 酶制剂的生产和测定方法, 北京: 中国工业出版社, 1971.

## THE CULTURAL CONDITIONS OF FERMENTATION DISTILLER'S GRAINS TO PRODUCE FEEDING-PROTEINS AND THE ANALYSIS OF THE FERMENTED PRODUCTS

Zhang Borun    Liu Yufang    He Xiuping    Liu Weiping    Chen Yumei

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

**Abstract** The cultural conditions of fermentation distiller's grains to produce feeding-proteins using *G. candidum* Z-4, *C. tropicalis* Z-14 and *T. lignorum* Z-20 and the analysis of the fermented products were reported. The optimal of culture conditions were: distiller's grains and barley malt-root flour as carbon source and urea as nitrogen source in medium, initial pH6.0, inoculation size 10%, culture temperature 28~30°C for 72h. The analysis of the fermented products showed that content of crude proteins of the fermented products reached 32.1%, it contains 18 amino acids. The contents of vitamin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> were 2.2mg / kg and 52.6mg / kg respectively. The content of crude fat was 5.6%. it contains higher activities of hemicellulase, cellulase and amylase.

**Key words** Feeding-protein, Distiller's grains, Cultural condition, Analysis of products