

玉米秸秆发酵生产蛋白饲料的研究

李海红, 同 帜, 仝攀瑞

(西安工程科技学院 环境与化学工程分院, 陕西 西安 710048)

摘要:利用产生纤维素酶的菌种与不同的酵母菌,使玉米秆转化为具有高蛋白含量和生物活性的蛋白饲料。通过生物糖化、发酵实验,分离出适合玉米秆发酵的菌种,生产出含糖量高的蛋白饲料。结果表明:单株菌种中,用绿色木霉糖化后含糖量可达334.36 mg/g,白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉等糖化效果最好,糖化后含糖量可达389.56 mg/g。从牛胃内含物中分离出的假丝酵母、牛胃白、牛胃红均有较好的产蛋白率,其中以假丝酵母最佳,3种菌有较好的共生性。

关键词:玉米秸秆;糖化;发酵;蛋白;纤维素降解

中图分类号:X712 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-274 X (2003)06-693-04

我国作为农业大国,盛产小麦、玉米和水稻,每年农作物秸秆达 $5 \times 10^8 \sim 6 \times 10^8$ t之多^[1],大多在田间废弃或焚烧,不但造成了资源的浪费,也使大量烟尘散发于空气之中,严重污染空气环境,导致人群呼吸道疾病增加,甚至影响飞机起飞。然而,秸秆富含粗糖、粗蛋白等有利于家禽、家畜所需的成分,对其进一步开发利用有很大的社会经济前景。同时,我

国又是一个饲料(尤其是蛋白饲料)严重短缺的大国,每年需进口大量的鱼粉以弥补蛋白饲料的不足。能否将秸秆纤维转化为动物可利用,且营养价值高的蛋白饲料,以解决饲料需求的严重不足,就显得尤为重要。表1,表2是对我国各种农作物秸秆总量和主要成分的综合分析。

表1 各种农作物秸秆中主要成分含量^[2]

Tab. 1 The content of chief component in various corn straw

营养指标	稻草	麦秆	玉米秸秆
纤维素/%	33.8	43.2	32.9
半纤维素/%	20.9	14.2	32.5
木质素/%	5.2	7.9	4.6
粗蛋白/%	4.96	12.4	20.6
细胞内容物/%	32.8	30.9	28.8

表2 全国主要产粮区作物秸秆总量^[2]

Tab. 2 The corn straw quantities of chief corn fields in our country

10⁶ t

省区	山东	四川	河南	江苏	河北	湖北	吉林	黑龙江	湖南	安徽	辽宁	广东	陕西
秸秆量	58	55	54	45	38	31	30	29	27	22	19	18	17

从表1可以看出,玉米秸秆的蛋白质含量相对白饲料。较高,木质素含量相对较低,理论上更符合生产高蛋

收稿日期:2003-06-09

基金项目:陕西省自然科学研究资助项目(2002E,14)

作者简介:李海红(1971-),女,陕西高陵人,西安工程科技学院工程师,从事生物化工研究。

1 实验部分

1.1 材料和方法

1.1.1 材料及仪器 牛胃内含物;秦岭南麓的腐烂树枝;玉米秸秆粉;麦芽糖培养基;霉菌培养基;白腐真菌培养基;凯氏定氮仪;凯氏烧瓶;培养皿;PYX-DHS 型恒温培养箱;HQL300A 型恒温摇床。

1.1.2 菌种的分离 对于菌种的要求:①能生产多种分解纤维素的酶;②能有效地提高原料中的无机氮转化为菌体蛋白质;③能产生多种分解酶;④不产生有毒物质,菌体耐性高,不容易自溶分解;⑤有一定的耐高温性。根据以上要求,我们采用牛胃内含物及秦岭南麓潮湿森林的朽木树皮为菌种来源。

分离菌用培养基:酵母菌采用麦芽糖培养基;霉菌采用霉菌培养基;白腐真菌采用专用培养基。分离、纯化采用平面固体培养,扩大培养在恒温培养摇床中进行。

霉菌分离用牛胃内含物溶于无菌水,取上清液用霉菌培养基(玉米秸秆干粉 20 g, 尿素 0.3 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.4 g, CaCl_2 0.3 g, MgSO_4 0.3 g, 蛋白粉 0.75 g, 吐温-80 1 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5.0 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.6 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.4 mg, CoCl_2 2 mg), 30℃ 恒温箱中用固体培养基分离、纯化、富集。酵母菌分离用牛胃内含物溶于无菌水,取上清液用麦芽糖培养基(酵母膏 3 g, 麦芽汁 3 g, 蛋白胨 5 g, 葡萄糖琼脂 20 g, 琼脂 20 g), 平板分离, 在 30℃ 恒温箱中用固体培养基培养 48 h, 分离、纯化、

富集。白腐真菌分离菌种来自秦岭南麓潮湿森林的朽木, 将其制成菌悬液, 用白腐真菌培养基(KH_2PO_4 1.0 g, NaH_2PO_4 0.2 g, MgSO_4 0.5 g, VB_1 0.1 mg, CaCl_2 0.1 mg, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 mg, 琼脂 20 g, 适量葡萄糖和酒石酸铵), 平板分离, 在 30℃ 恒温箱中用固体培养基培养 48 h 分离、纯化、富集。分离出来的霉菌菌株有黑曲霉、绿色木霉、白腐真菌, 酵母菌菌株有假丝酵母、牛胃白和牛胃红。

1.1.3 菌株形态及优缺点 ①绿色木霉, 初为白色致密菌丝透明有隔膜, 分枝复杂, 孢子为球型绿色, 菌落为圆形, 边缘不规则, 含有水解结晶纤维素的全部酶组分, 酶蛋白产量高, 不能代谢木质素; ②白腐真菌, 菌体呈圆形绒毛状或粉状真菌丝有两又分支裂殖节孢子, 单个或呈链状长筒型, 菌落扁平、均匀, 有同生圆或放射线, 能分解包括木质素在内的全部木材组成成分, 分泌的酶系中包括内(外)切 β -葡萄糖酶、纤维二糖氧化酶等; ③假丝酵母, 乳白色菌落, 菌落平滑有或无光泽, 边缘整齐; ④黑曲霉, 其营养菌丝分化出厚壁的足细胞, 顶端膨大成为圆形或椭圆形的顶囊, 长出分生孢子梗, 最上层小梗为瓶状, 顶端生成串的球形分生孢子, 为黑色, 内切 β -葡萄糖酶与 β -葡萄糖苷酶活力高与木霉形成互补。

1.2 结果与讨论

1.2.1 糖化实验 对于糖化实验, 培养基采用玉米秸秆与麸皮 4:1 组合, 培养基与水的重量比为 1:1.2, 2~3 g 吐温-80 及微量盐, 用单种菌糖化和混合菌糖化, 通过测定还原糖含量检测其糖化效果。在表 3 中列出了糖化方法的菌种组合及含糖量。

表 3 不同菌及混合菌的糖化结果

Tab. 3 The saccharification results of different fungus and mixed fungus

菌种	白腐真菌	黑曲霉	绿色木霉	白腐真菌+绿色木霉	黑曲霉+绿色木霉	白腐真菌+黑曲霉+绿色木霉
糖量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	215.6	245.7	334.36	340.23	331.73	389.56

从表 3 可以看出, 白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉的降解效果最好, 达 389.56 mg/g, 绿色木霉次之, 达 334.36 mg/g, 白地霉仅为 215.6 mg/g。这说明, 绿色木霉糖化能力强, 产酶量高。同时, 可以看出白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉酶系较全, 纤维素降解能力就强, 白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉 3 种菌混合能达到很好的效果。

同时, 我们还对糖化后的粗纤维进行测定, 粗纤维的降解率也是衡量糖化结果的重要参数, 把经碱处理过的纤维素进行灼烧, 计算出粗纤维的含量列

于表 4。

表 4 显示出: 白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉混合糖化的粗纤维转化率比绿色木霉、黑曲霉、白腐真菌高, 这是因为酶系越全, 降解能力越好。有关实验已经证明, 白腐真菌是在生物条件下分解过氧化物胞外酶, 能够降解结晶和木质化的纤维^[3]。这样, 就有可能促进其他霉菌对纤维素生物降解, 所以白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉降解纤维素的能力高于单一菌种。

表 4 糖化过程中的纤维素降解率

Fig. 4 The cellulose decomposition rate during saccharification

菌 种	白腐真菌	黑曲霉	白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉	绿色木霉
粗纤维降解率/%	9.98	17.6	51.2	18.7

1.2.2 发酵试验

1) 温度对发酵的影响。利用白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉糖化后原料 100 g, 酵母菌悬液 50 mL (含菌量 $2.6 \times 10^7 \sim 2.8 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$), pH 在 5 左右, 不同的温度下进行发酵实验, 3 d 后测其蛋白质含量(见图 1)。从图 1 可以看出, 35℃ 为最佳温度, 假丝酵母产粗蛋白效果最好, 随着温度升高产量呈下降趋势, 假丝酵母下降趋势最快。

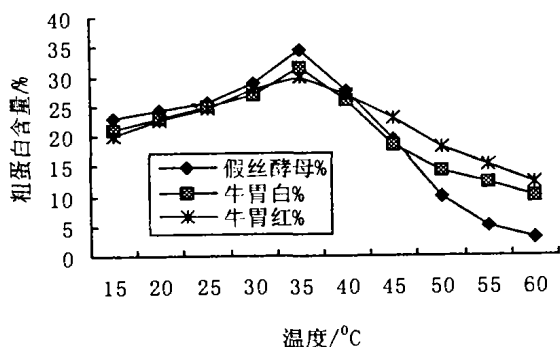


图 1 发酵温度对产粗蛋白的影响

Fig. 1 The effect of fermentation temperature for producing protein

2) 时间对发酵的影响。利用白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉糖化后原料 100 g, 菌悬液 50 mL (含菌量 $2.6 \times 10^7 \sim 2.8 \times 10^7 \text{ 个/mL}$) 在 pH=5 左右, 温

度控制在 35℃, 在不同的时间内进行发酵实验。图 2 显示了发酵时间和粗蛋白含量的关系, 可以看出 60 h 为最佳时间, 3 种菌发酵的蛋白质含量随着时间的变化趋势基本一致, 60 h 以后蛋白质含量的变化趋于平稳。由此可以推测, 3 种菌本来就是从牛胃内容物中分离而来的, 有很好的共生性, 这一点在图 1 的最佳温度中也能得到说明

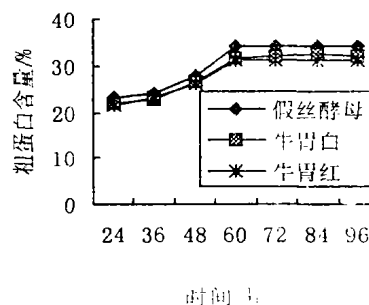


图 2 发酵时间对产蛋白的影响

Fig. 2 The effect of fermentation time for producing protein

表 5 中列出了利用白腐真菌+绿色木霉+黑曲霉糖化后原料在最佳发酵条件下发酵前后蛋白质含量的变化情况。

由于糖化、发酵分步进行, 在实际生产中会使生产工艺复杂化, 为了简化生产工艺, 采用了糖化、发酵同步进行试验, 其结果如表 6

表 5 糖化、发酵分步进行结果

Fig. 5 The results of saccharification and fermentation separately

菌 种	牛胃红	牛胃白	假丝酵母
发酵前粗蛋白	20.6	20.6	20.6
发酵后粗蛋白	32.8	33.1	33.3
蛋白转化率	59.4	60.7	66.6

表 6 糖化、发酵同步进行结果

Fig. 6 The results of saccharification and fermentation synchronization

菌 种	绿色木霉+白腐真菌+黑曲霉+牛胃红	绿色木霉+黑曲霉+白腐真菌+假丝酵母	绿色木霉+黑曲霉+白腐真菌+牛胃白
蛋白转化率	34.6	51.7	38.1

从表 5.6 可以看出, 分步进行蛋白质转化率高于同步进行, 假丝酵母的蛋白质转化率最高可达到 66.6%, 牛胃白和牛胃红的蛋白转化率在 60% 左

右。这一点, 可以解释为: 分步进行的糖化和发酵都是在最佳条件下进行的, 而同步进行的糖化和发酵很难都在最佳条件下进行。

2 结 论

1) 固态发酵是一种投资少、耗能低、操作简便的生物转换技术,其废料量少、无污染、易供氧通风。

2) 从动物肠道中分离出的微生物酶系全,共生性好,对秸秆纤维有较强的分解作用。

3) 绿色木霉对玉米秸秆中纤维素有较好的降解作用,绿色木霉+黑曲霉+白腐真菌组合后的糖化效果要优于单菌株。

4) 糖化、发酵过程分开进行能使发酵产物蛋白质含量更高。

参考文献:

- [1] 刘俊峰,易平贵,金一粟. 稻草、麦秆等农作物秸秆资源再利用研究[J]. 资源科学, 2001, (2): 46-48.
- [2] 陈庆云,王云海. 农作物秸秆综合利用新技术[J]. 再生资源研究, 2002, (2): 33-35.
- [3] 俞毓馨,吴国庆,孟宪庭. 环境工程微生物检测手册[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990, 145-148.

(编辑 陈懿文)

Study on producing protein feeds through fermenting maize straw

LI Hai-hong, TONG Zhi, TONG Pan-rui

(Department of Environment and Chemistry Engineering, Xi'an Engineering and Science Technology Institute, Xi'an, 710048, China)

Abstract: Yeast and other fungus are used to make the corn straws to change into protein feeds which include high content protein and biological activity. According to biological saccharification and fermentation experiment, the fungus which are fit for the fermentation of corn straws are separated. The protein feeds which include high glucose quantity are produced. The saccharification effect of Green Thichoderma is best and the glucose quantity can arrive 334.36 mg/g. But the glucose quantity of White fungus+Green Thichoderma+Black Aspergillus can arrive 389.56 mg/g. The Candida, White OX stomach Yeast and Red OX stomach Yeast could be separated from ox stomach. The results indicate the effect of Candida is best and three fungus have the good symbiotic properties.

Key words: maize straw; saccharification; fermentation; protein; cellulose decomposition

· 学术动态 ·

我校应用开发研究和科技成果转化势头良好

5年来,全校共签订横向技术合同190项,合同额达3683万元,并连续两年突破1000万元大关。我校依托自身技术与企业联合组建研发中心11个,组建高新技术公司15家,注册资本金达2.57亿元,其中学校股本3115万元。我校还与各类企业联合,围绕国民经济发展和企业生产过程中的重大科学问题开展广泛合作与研究。地质学系长期与中国石油集团、中国石油化工集团下属的多家油田,特别是一批西部油田开展全方位的科技合作,为西部油气资源的开发做出了重大贡献;经济管理学院、城市与资源学系等围绕西部经济发展、企业和社会发展规划、西部生态和环境重建等一系列重要问题进行研究,为政府和企业提供了重要的决策依据。以孙文基教授的一类新药技术为主要依托组建的“陕西西大科技园发展有限公司”、以耿信笃教授的分离纯化技术为依托组建的“陕西西大科林公司”、以侯洵院士及其课题组的大功率激光器研制技术为依托组建的“陕西西大科里奥光电技术有限责任公司”、以陈超教授的生物芯片和微检测技术为主要依托组建的“陕西西大北美基因股份有限公司”、以范代娣教授的类人胶原蛋白技术为主要依托组建的“西安巨子生物技术有限公司”等,其技术产品有望走向市场,一些企业还获得了国务院设立的“中小企业创新基金”支持,展现了我校以技术为资本的科技产业的良好发展势头。

(薛 鲍)