

# 微生物发酵果渣蛋白饲料研究

## I. 菌种选育及理化性质测定

陈五岭, 段东霞, 高再兴

(西北大学 生命科学学院, 陕西 西安 710069)

**摘要:**经土壤分离、纯化、筛选到2株耐高酸、高渗透压、高含水量生长环境、菌体蛋白含量40%以上的菌株,经鉴定为产朊假丝酵母(1号)、黑曲霉(2号)。通过混合发酵果渣结果表明,果渣中果胶、高酸高糖被转化,蛋白质含量大大提高。该菌株适合应用于大生产。

**关键词:**菌种选育;产朊假丝酵母;黑曲霉

**中图分类号:**Q935 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-274X(2003)01-0091-03

我国年产苹果 $2\ 000\times 10^4$  t,果汁加工中每年排出的苹果渣约达 $100\times 10^4$  t。由于果渣量大,易腐败,含水量高达80%以上,蛋白质含量极低,且含有各类有机酸,易引起牲畜产生腹泻、流产等,难以直接作为畜禽饲料。其他利用途径由于技术可行性,生产成本及销路等各方面因素的影响,也无法大规模的实施。目前,我国苹果渣除少量被利用外,绝大部分被遗弃,不但浪费掉巨大的资源,而且造成严重的环境污染。

本实验选育的两株高蛋白菌可有效地转化果渣中的有机酸、果胶、半纤维素等碳水化合物,提高果渣的蛋白质含量。这一研究成果不仅从根本上解决了果渣的转化利用难题,而且对解决我国蛋白饲料资源的缺乏和提高水果加工业经济效益,减少环境污染具有重要意义<sup>[1~5]</sup>。

## 1 材料

### 1.1 菌种

分别从山东乳山、莱阳,陕西合阳、乾县、渭南等地果汁厂长期堆放苹果渣的区域经土壤分离、纯化、筛选到2株耐高酸、高渗透压、高含水量生长环境、菌体蛋白含量40%以上的菌株,经鉴定为产朊假丝酵母(1号)、黑曲霉(2号)。

### 1.2 苹果渣

选自国光苹果、秦冠苹果、富士苹果榨汁后的新

鲜果渣。

### 1.3 培养基

1.3.1 菌种分离培养基 考曼-威廉斯-索姆奈培养基(I. IV);察氏培养基;麦芽汁琼脂培养基(酵母用);土豆-葡萄糖琼脂培养基(PDA)(丝状真菌用)。

1.3.2 菌种选择培养基 不同含水量、pH和含糖量的新鲜苹果渣加氮源。

1.3.3 发酵培养基 新鲜苹果渣加氮源。

## 2 实验方法

### 2.1 菌种分离

将采集的样品分别配制成5%的悬液,在分离培养基平板上涂布、划线,28℃培养2~3 d,挑选出生长迅速的酵母和丝状真菌。经纯化,移入斜面试管保存。

### 2.2 种选择

将选出菌种分别接入选择培养基,28~30℃培养48 h,将培养料干燥后测其蛋白含量。选择能在培养料pH3左右、含水量85%以上、含糖量10%~15%的苹果渣中生长迅速、培养料蛋白含量达30%以上的菌株,作为生产菌株。

### 2.3 菌株鉴定

参照《酵母菌的特征与鉴定手册》<sup>[6]</sup>、《常见与常用真菌》<sup>[7]</sup>和《菌种保藏手册》<sup>[8]</sup>对菌株进行初步鉴定。

收稿日期:2001-08-27

作者简介:陈五岭(1954-),男,陕西汉中,西北大学教授,从事微生物学研究。

## 2.4 测定方法

2.4.1 粗蛋白测定 微量凯氏定氮法(GB/T14770-90)。

2.4.2 粗脂肪测定 索氏抽提法。

2.4.3 粗纤维测定 酸酐洗涤法(GB/T6439-94)。

2.4.4 灰分测定 灰化法(GB/6438-92)。

## 2.5 菌种培养

2.5.1 酵母菌培养 以 10% 豆芽汁加 2% 蔗糖、2% 尿素于三角瓶中。28℃ 振荡培养 24 h 后,将培养液接入含 2% 尿素的麸皮固体培养基。28℃,培养 48 h 即可。

2.5.2 黑曲霉培养 在 1 000 mL 三角瓶中加入 200 g 含 2% 尿素的麸皮培养基,接入曲霉孢子悬液于 30℃ 培养 56 h 后作为种曲使用。

## 2.6 苹果渣发酵

将一定量的苹果渣加不同的氮源作为发酵培养基,分别接入一定量的酵母菌和霉菌,在一定的培养条件下进行发酵培养。并且,测定培养物中的蛋白含量,据此确定最适发酵工艺条件。

## 3 结果与分析

### 3.1 菌种的筛选及初步鉴定

将不同来源的样品分离纯化,镜检后保存在斜面培养基上。

将经过初筛挑选的酵母和丝状真菌分别接入装有 25 mL 培养基的 250 mL 三角瓶中,30℃ 摇床培养适当时间,离心收集菌体,测定蛋白质含量。分别得到菌体蛋白质含量为 48.5% 的一株假丝酵母和菌体含量为 40.8% 的黑曲霉菌株,分别编为 1 号和 2 号,并对菌株形态和生理特征进行了初步鉴定。

3.1.1 1 号菌株的特征 ① 形态特征,菌落乳白色,以分裂和多端出芽的营养体方式繁殖,在加盖片的玉米粉琼脂上培养,形成大量具有分枝短链的原始假菌丝,未曾发现有性世代;② 发酵,发酵葡萄糖、蔗糖、对半乳糖、麦芽糖、海藻糖、乳糖、纤维二糖、菊糖等不发酵;③ 同化碳源,葡萄糖、蔗糖、棉籽糖、麦芽糖、菊糖、松三糖、纤维二糖、乳糖、柠檬酸、琥珀酸、乙酸等利用良好;④ 维生素需求,在无维生素的培养基中生长良好;⑤ 同化氮源,能够良好利用硫酸铵、硝酸铵、氯化铵、尿素、磷酸二氢钾、磷酸二铵等;⑥ pH 生长需求,菌株在 pH3 的环境中生长良好;⑦ 耐渗透压,耐氯化钠浓度 8%,耐葡萄糖浓度可在 15% 以上;⑧ 最高生长温度,44℃ 时能够

生长。

其主要形态特征和生理特征与《酵母菌的特征与鉴定手册》<sup>[6]</sup>, *Yeasts: Characteristics and Identification*<sup>[7]</sup> 中的丝胞酵母属(*Trichosporan* Behr) 的特征基本相符。

3.1.2 2 号菌株的特征 ① 菌落形态,菌落在察氏培养基上 28~30℃ 培养初为白色,当直立的分生孢子成熟后,菌落变为黑色;② 菌体形态,分生孢子梗长为 200~400 μm,直径 12~20 μm,顶束球形,大小为 30~50 μm,小梗双层,初生小梗 24~320 μm,孢子出生后呈厚绒状,分生孢子最初为嫩黄色,后变为黑色或黑褐色,次生小梗 32 μm,分生孢子球形态,大小为 4~5 μm,表面不光滑;③ 同化碳源,能够良好利用绝大部分多糖、单糖和双糖、淀粉和乳糖、柠檬酸等;④ 同化氮源,能够良好利用蛋白胨、尿素、硝酸铵、氯化铵、硫酸铵、磷酸氢二铵、磷酸二氢铵等;⑤ pH,菌株在 pH3 的培养条件下生长良好;⑥ 耐渗透压,菌株分别在 15% 葡萄糖、8% 氯化钠的培养条件下正常生长;⑦ 最高生长温度,菌株在 45℃ 培养条件下,生长良好。

根据其形态特征及生理特征符合《菌种保藏手册》<sup>[6]</sup> 中半知菌纲、丛根孢目、丛根孢科、曲霉属、黑曲霉群、黑曲霉(*Aspergillus niger*) 的各项主要特征。

### 3.2 苹果渣和发酵产品的主要成分分析(见表 1)

表 1 苹果渣和发酵产品的主要成分

Tab. 1 Constituent of apple waste and fermented product

成分	新鲜果渣/%	产品/%
粗蛋白	1.03~1.8	33.4
粗脂肪	0.82~1.34	5.08
粗纤维	4.3~10.2	15.8
粗灰分	1.2~2.3	2.8

从上述指标来看,废弃的苹果渣经微生物发酵后,通过微生物分解,转化了果渣中果胶、高糖等对牲畜有害物质。蛋白质含量大大提高,通过各种酶作用使果渣中大分子物质转化成动物易吸收的可溶性小分子物质,能大大提高牲畜的饲料转化率,并改善了饲料的适口性。由于微生物产生的大量有益菌体蛋白和各类有益于牲畜健康的酶类和活性因子,有助于动物体内有益菌体的繁殖,从而提高牲畜的免疫力和抗病能力,牲畜的肉质、产乳率也能大大提高。因此,本实验选育的两个菌株适用于工业化发酵

生产苹果渣蛋白饲料。

### 参考文献:

- [1] 张博润,刘玉方,陈玉梅.农作物秸秆发酵剂的研究[J].微生物学通报,1996,23(3):136-138.
- [2] 徐坚平,刘均松,孔维,等.利用秸秆类物质进行微生物共发酵生产单细胞蛋白[J].微生物学通报,1995,22(4):223-225.
- [3] 白玉明,段洁,褚西宁.利用酿造糟制备饲用复合酶制剂[J].微生物学通报,1996,23(2):147-149.
- [4] 代小江,王礼德,贺锡勤,等.利用微生物混合培养物生产沙棘果渣单细胞蛋白[J].微生物学通报,1995,22(5):267-270.
- [5] 郭维烈,郭庆华.强化果渣基质蛋白的研究[J].物料研究,1997,(4):7-9.
- [6] [英]JA·巴尼特,RW·佩思.酵母菌的特征与鉴定手册[Z].北京:科学出版社,1991.
- [7] 中国科学院真菌研究所.常见与常用真菌[M].北京:科学出版社,1976.
- [8] 中国科学院微生物研究所《菌种保藏手册》编写组.菌种保藏手册[Z].北京:科学出版社,1980.

(编辑 徐象平)

## Production of protein-feed from apple waste with a mixed microbial culture: I The screening of the strains and the determining of physical and chemical nature

CHEN Wu-ling, DUAN Dong-xia, GAO Zai-xing

(College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Abstract:** The process of screening two high-protein strains for apple waste fermentation is demonstrated. After separation and purification from the earth, two high acid resistant, high osmotic pressure resistant strains were screened out, which can live in the high water content environment. Protein content of the each strain accounts more than 40%. They were identified as *Candidium utilis* and *Asperillus niser*. It is showed that the pectin and sugar in the apple waste were converted. Protein content was greatly increased. This technology is suitable for industrial manufacture.

**Key words:** screen; *Candidium utilis*; *Asperillus niser*

### · 学术动态 ·

## 2002 年度我校获准 5 项国家重大、重点科研项目

2002 年,我校科研处围绕学校整体工作部署和科研工作要点,在科研项目申报工作中坚持“抓大促小,主动出击”的政策,经多方面努力,积极运作,获准一批高层次项目。全年共组织申报各类科研计划项目 500 余项,获准了 233 项,其中省部级以上项目 91 项。获准项目在规格、数量和经费上均较往年有大幅度提高。截止目前,争取到的国家级重大、重点科研项目如下:

1) 国家“863 计划”生物领域“功能基因组和生物芯片”重大专项课题——“用于药物筛选疾病诊断和食品安全检测的系列生物芯片产业化技术和集成体系的研究”,获国家科技部资助研究经费 2 200 万元(子课题切出 400 万元,学校实际获准研究经费 1 800 万元)。该项目是我校目前获准资助经费最高的课题。

2) 张国伟院士申报的国家自然科学基金重点项目“西秦岭-松潘构造形成演化与大陆动力学研究”获准研究经费 180 万元。

3) 国家重大基础研究(“973 计划”)前期研究专项“中国西北地区的油气成藏动态预测和定位的理论与方法”和“哲理数学的理论体系研究”获准研究经费 30 万元(全省共 3 项,我校 2 项)。

4) 国家社会科学基金重点项目“社会主义社会劳动价值论新探”获准研究经费 10 万元(全省共 2 项)。

5) 国家“十五”科技攻关项目“渤海湾辽河拗陷大民屯凹陷潜山形成与地貌特征”研究,获准经费 15 万元。

(薛 鲍)