

文章编号 :1009-038X(2002)06-0648-03

秸秆氨化后生物技术处理的工艺

卜春文, 贾建波

(淮阴工学院 生物工程与化学工程系, 江苏 淮安 223001)

摘 要:以最佳条件氨化处理后的玉米秸秆为原料,通过对菌种的诱变筛选、固体培养基的组合实验及发酵工艺条件优化等,确定质量分数为 70% 氨化秸秆末、20% 的麸皮与 15% 的鲜酒糟配料比,采用黑曲霉(经处理)与面包酵母菌种比质量分数为 1:1,经 32℃、28 h 通气发酵,可使蛋白质含量大幅度提高,并获得较满意的植酸酶、酸性蛋白酶、淀粉糖化酶酶活,具有推广应用价值。

关键词:氨化;发酵;蛋白质;复合酶

中图分类号:S 816.6

文献标识码:A

Biological Processing of Ammoniated Corn Straws

BU Chun-wen, JIA Jian-bo

(Huai Yin Industry college, Huai 'An 223001, China)

Abstract: This paper deals with the ammoniated corn straws. By selecting of microorganisms, composing of culture media, and optimizing ferment conditions, the optimal conditions were determined as that 70% ammoniated straw, 20% of the bran and 15% of the fresh distiller's grains, 1:1 proportion of the *Aspergillus niger* to *Saccharomyces*, fermented at 32℃ for 28 hours. The content of protein was improved greatly, and the enzyme activities of α -amylase, acid proteinase, amyloglucosidase was contented. The practical function in the industry was implied.

Key words: ammoniation; fermentation; protein; compound; enzyme

秸秆的氨化技术或生物技术处理已有较多的研究报道。秸秆氨化后蛋白质含量略有提高,木质素、纤维素初步降解,提高了秸秆的消化利用率,为微生物生长提供部分营养条件^[1,2]。本实验对玉米秸秆氨化后继续进行生物技术处理,可进一步提高营养价值,同时产生家禽、家畜常需的植酸酶和其它复合酶,对饲料添加剂生产有一定的经济价值。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米秸秆、尿素、醋糟或固体酒糟(鲜)。

菌种:安琪活性干酵母,As3.4309 黑曲霉。

主要仪器设备:LDZX-40AI 高压灭菌锅,DNP-9032 电热恒温培养箱,LRH-250S 恒温恒湿培养箱,JA-1003 型电光自动数显天平,BX41FT 系统显微镜,凯氏定氮仪,7520 紫外分光光度计。

收稿日期 2002-05-30; 修订日期 2002-09-14。

作者简介:卜春文(1946-)男,江苏丹阳人,高级工程师。

万方数据

1.2 测定方法

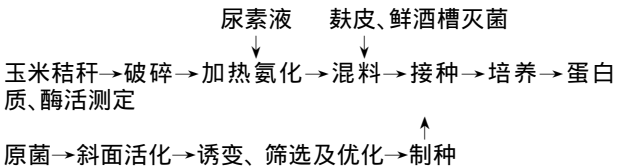
粗蛋白 :微量凯氏定氮法测定 ;真蛋白 :按 BG6432—86 方法测定 ;植酸酶 :按丙酮—磷钼酸铵法测定 ;酸性蛋白酶 :按紫外分光光度法或甲醛滴定法测定 ;淀粉糖化酶 :按次碘酸钾法测定 ;纤维消化率 粗纤维含量测定^[3].

1.3 实验方法与步骤

1.3.1 斜面培养基 麦芽汁培养基或 PDA 培养基.

1.3.2 固体培养基 组分(质量分数/%):氨化后玉米秸秆末 :70 麸皮 20 鲜活糟 :15 水分 :55.

1.3.3 工艺过程



1.3.4 实验步骤

1) 玉米秸秆的处理及氨化^[4]:为提高氨化效率,将玉米秸秆切段破碎成细末,以尿素(秸秆总量质量分数 4.0%)液润水至基料水分质量分数 40% 左右,置密闭锅内,采用 100 ℃ 常压,氨化 1 h,氨化结束立即冷却备用.

2) 菌种的选择与菌种比 :考虑饲用蛋白与复合酶的安全性,与共栖共生微生物特性,本实验确定以黑曲霉与活性面包干酵母为出发菌.将 A_S 3.4309 黑曲霉按常规物理、化学诱变方法交叉重复诱变二次及定向复筛、优化,定名为 HG-1003 菌株.面包酵母菌与诱变处理后的黑曲霉分别制成三角瓶种子,再按总接种量质量分数 6%~8% 的比例分别按质量分数 2:1,1:2,1:3 菌种比作浅盘培养,对比蛋白质含量和酶活.

3) 固体培养基的优化组合^[5]:曲霉菌与酵母生产繁殖需有充足的 C:N 及适宜的 pH,并满足增加蛋白、产酶的要求.实验以麸皮及鲜酒糟兼作 C:N 与 pH 适度的调整.由于氨化后的秸秆尚有残余无机 N,故不需再补充,微量元素、生物素在配料成分中已满足.为确定各配料的合理组分比例,以获得较高蛋白含量的酶活,各组分按不同水平作 L₉(3³) 正交试验(见表 1).

4) 发酵工艺条件的优化 :实验兼顾黑曲霉与面包酵母菌生长的适宜条件,以蛋白质增加、提高酶活为目的,确定按培养基的最佳组合.料层在浅盘堆放厚度为 2~3 cm,菌种接种总量质量分数为 6%~8%(菌种黑曲霉与面包酵母菌质量分数为 1:1).接种后在恒温恒湿培养箱中培养,对发酵温度、时

间、基料、水分、基料 pH 作 L₉(3⁴) 正交试验,以确定最佳工艺条件.各因素水平见表 2.

表 1 培养基组分比例水平

Tab.1 Composition of media and levels %				
水平	因 素			备 注
	氨化后 秸秆末(A)	麸皮 (B)	鲜活糟 (C)	
1	30	28	4.5	新鲜酒糟空白对照试验
2	32	30	5.0	
3	34	32	5.5	

表 2 发酵工艺条件因素水平

Tab.2 Fermentation conditions and levels				
水平	因 素			
	温度/ ℃	发酵时间/ h (B)	基料 pH (C)	基料水分/ % (D)
1	30	28	4.5	50
2	32	30	5.0	55
3	34	32	5.5	60

2 结果与讨论

2.1 玉米秸秆氨化工艺

对氨化的工艺条件,经多方案实验比较,确定了氨化温度 100 ℃、时间 1 h、尿素用量 4%(对秸秆末量)的氨化方案,粗蛋白增长 3%~4%,消化率达 25%~30%,生物处理的效果最好,也是较为经济、饲料添加剂工业化生产便于推广的方案.

2.2 最佳固体发酵剂配比

最佳固体发酵剂配比 L₉(3³) 正交试验(按最佳菌种比、质量分数 6%~8% 的总接种量)结果见表 3.

表 3 培养基组分 L₉(3³) 正交试验

Tab.3 Orthogonal experiments for composition of solid media

序号	因素组合			蛋白质 质量 分数/%	植酸 酶/ (U/g)	酸性 蛋白酶/ (U/g)	淀粉糖 化酶/ (U/g)	纤维 消化率/ %
	A	B	C					
1	1	1	1	20.5	48.4	1549	3310	58.4
2	1	2	2	21.3	52.3	1559	5438	62.4
3	1	2	3	18.4	63.6	1629	5520	60.2
4	2	1	2	22.3	65.9	1712	5640	68.9
5	2	2	3	21.7	64.1	1690	5362	64.8
6	2	3	1	18.8	57.6	1553	4833	58.3
7	3	1	3	19.4	49.5	1486	4644	62.2
8	3	2	1	28.2	46.2	1370	4724	64.7
9	3	2	1	17.7	51.1	1450	4554	61.5

由表 3 比较分析 , $A_2B_1C_2$ 组合(质量分数/%) 即氨化秸秆末 70、麸皮 20、鲜酒糟 15 的混料配比 , 蛋白质含量、酶活、粗纤维消化率均取得较满意的结果 , 尤其是酒糟的添加 , 既有利于基料 pH 的控制 , 也有利于目的酶的生成 .

2.3 黑曲霉与面包酵母菌种比对蛋白质含量与复合酶活影响

黑曲霉与面包酵母菌种比对蛋白质含量与复合酶活影响见表 4. 可以看出 , 随着黑曲霉与面包酵母的比例减小 , 复合酶活降低 , 但蛋白质含量较高 , 若同时考虑蛋白质含量与酶活因素 , 黑曲霉与面包酵母质量分数以 1:1 的菌种比为宜 , 但也要看具体生产目的是以酶活为主 , 还是以蛋白质含量为主 , 再选用合适的比例 .

2.4 发酵工艺条件的优化

对发酵工艺参数、温度、时间、基料 pH 及基料

水分的控制 $L_9(3^4)$ 正交试验结果及指标综合分析 , 结果表明 , $A_2B_1C_2D_3$ 水平组合 , 即发酵温度 32 ℃ , 发酵时间 28 h , 基料 pH 控制 5.0 , 基料水分质量分数 55% , 为兼顾两种微生物生长条件与产酶活的最佳工艺条件 , 影响发酵结果主次因素依次为 $D>A>C>B$. 各单因素对蛋白质、3 种酶活之和影响见图 1 .

表 4 不同菌种比发酵效果比较			
Tab.4 Effects of ratio of microorganisms			
菌种比	粗蛋白 质量分数/%	复合酶活/ (U/g)	粗纤维 消化率/%
2:1	18.87	7182	59.6
1:1	21.42	6954	63.5
1:2	21.89	5230	61.4

注 : 复合酶活指实验测定酶活值之和 .

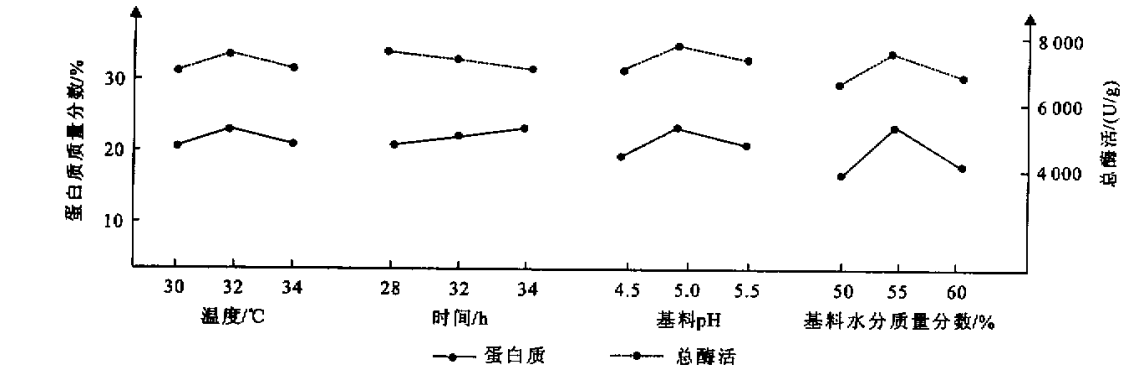


图 1 工艺条件单项因素分析趋势图
Fig.1 Analysis of single factor

在最佳因素水平组合条件下 , 蛋白质质量分数达 23.4% , 复合酶活 7 500 U/g 左右 .

3 结 论

1) 除本工艺外还可对菌种定向诱变、筛选或采用其它适用微生物如产纤维素酶菌种、菌种比组合、发酵工艺参数改变 , 产生蛋白质和饲料生产的

目的酶类 .

2) 本实验可为饲料加工厂将农业废料转化为具有经济效益的饲料添加剂 , 提供基础生产工艺条件 .

3) 本实验中试或批量生产(固体厚层通风培养) 时 , 只需对操作条件温度、湿度控制要求进一步进行实验即可 .

参考文献 :

[1] 李孝辉 . 饲用微生物酶制剂及其研究应用概况 [J] . 饲料工业 , 2001 (1) : 40 - 43 .
[2] 付京花 . 生物技术在降解秸秆木质素中的应用 [J] . 饲料工业 , 2001 (6) : 8 - 39 .
[3] 崔淑文 . 饲料标准资料汇编 [1] [M] . 北京 : 中国标准出版社 , 1991 .
[4] 佟屏亚 . 现代玉米生产 [M] . 北京 : 农业出版社 , 1992 . 241 - 247 .
[5] 郭维烈 . 新型发酵蛋白饲料 [M] . 北京 : 科学技术文献出版社 , 1996 . 160 - 185 .
[6] 诸葛键 . 工业微生物实验技术 [M] . 北京 : 中国轻工业出版社 , 1997 . 202 - 208 .

(责任编辑 杨 勇)