

鲜苹果渣发酵生产饲料蛋白研究^{*}

常显波¹, 薛泉宏¹, 来航线¹, 岳田利², 辛健康¹

(1 西北农林科技大学 资源环境学院; 2 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 采用混合培养法研究接菌、加氮对未灭菌和灭菌鲜苹果渣发酵生产饲料蛋白的影响。结果表明, 接菌后鲜苹果渣的纯蛋白含量显著提高, 其中未灭菌鲜苹果渣接入黑曲霉 UA8 发酵后, 纯蛋白含量较未接菌的增加了 137.8%。加氮处理后鲜苹果渣纯蛋白含量高于不加氮处理, 其中未灭菌鲜苹果渣接入黑曲霉 UA8 后加氮发酵产物纯蛋白含量较不加氮对照增加了 35.2%。未灭菌鲜苹果渣发酵后纯蛋白含量高于灭菌处理, 其中单菌有氮发酵处理中, 接入黑曲霉 UA8 时纯蛋白含量分别为 105.6 和 75.0 g/kg, 直接发酵较灭菌发酵纯蛋白增加了 40.8%。鲜苹果渣发酵后发酵产物回收率与其纯蛋白含量呈负相关, 未灭菌鲜苹果渣发酵有氮和无氮处理中, 接入黑曲霉 UA8 后, 发酵产物纯蛋白含量分别为 105.6 和 78.1 g/kg, 而其回收率分别为 62.2% 和 81.0%。不同 pH 时鲜苹果渣发酵产物纯蛋白含量呈 pH 4 > pH 6 的趋势, 未灭菌鲜苹果渣发酵中果渣酸度为 pH 4 和 pH 6 时, 酵母菌发酵产物纯蛋白含量分别为 101.2 和 75.9 g/kg, 果渣自然酸化使发酵产物纯蛋白增加了 33.3%。

[关键词] 苹果渣; 饲料蛋白; 发酵饲料; 单细胞蛋白; 固态发酵; 酵母菌; 黑曲霉

[中图分类号] S816.403; TQ920.9

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671-9387(2004)01-0040-07

我国年产苹果接近 2 000 万 t, 苹果加工中每年排出苹果渣 100 多万 t。目前仅有少量苹果渣被用于深加工和直接作饲料, 绝大部分用于堆肥或被遗弃, 造成了严重的资源浪费和环境污染。苹果渣中含一定量的蛋白质(约 30 g/kg)、糖分、果胶质、纤维素和半纤维素、维生素和矿质元素等营养成分, 是微生物的良好营养基质, 但作为动物饲料, 其蛋白质含量偏低, 影响了其他成分的利用。采用特定工艺, 通过微生物发酵提高苹果渣中蛋白质含量, 将苹果渣转化为营养丰富的蛋白质饲料, 是解决苹果渣出路的重要途径之一, 这对缓解我国蛋白饲料资源缺乏, 提高水果种植与加工效益及减少环境污染具有重要意义。关于利用苹果渣发酵生产饲料蛋白的培养基和发酵工艺已进行了一些研究^[1~4], 但所用材料为烘干果渣。而利用鲜苹果渣不灭菌直接发酵可简化生产工艺, 在生产上有重要的实用意义。本研究重点探索接菌、加氮对未灭菌和灭菌鲜果渣发酵产物中纯蛋白含量的影响, 旨在为利用鲜果渣直接生产发酵饲料蛋白提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

原料: 鲜苹果渣(含水量 764 g/kg)由乾县海升果汁厂提供。

菌种: 酵母菌 T₂, T₈, T₉, T₁₂, T₁₇ 和黑曲霉 UA8 由西北农林科技大学资源环境学院微生物教研室保存。

培养基: 酵母菌和黑曲霉活化培养基为 PDA 固体培养基^[5], 酵母菌扩大培养基为 PDA 液体培养基^[5], 黑曲霉扩大培养基为麸皮 水(体积比)= 1

1.2 方法

1.2.1 UA8 孢子悬液制备 将 28 培养好的斜面菌种用无菌水制成菌悬液, 接入装有麸皮固态培养基的 250 mL 三角瓶中, 培养 3 d。待孢子成熟后向三角瓶中加入 180 mL 无菌水(其中含吐温 0.5 g/L), 充分摇动后用无菌纱布过滤, 即得均匀的孢子悬液(UA8 孢子数为 $1.7 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$)。

1.2.2 液体酵母菌菌种制备 用无菌操作向 150

* [收稿日期] 2002-12-23

[基金项目] 国家科技部西部专项基金项目(2001BA901A 19)

[作者简介] 常显波(1978-), 女, 山东即墨人, 在读硕士, 主要从事农业微生物研究。

[通讯作者] 薛泉宏(1957-), 男, 陕西白水人, 教授, 主要从事微生物资源利用研究。E-mail: xueqhong@sina.com

mL PDA 液体培养基中接入少量酵母菌。28 培养 3 d。酵母菌 T₂, T₈, T₉, T₁₂ 细胞悬液分别为 2.9 × 10⁸, 2.5 × 10⁸, 2.4 × 10⁸ 和 2.1 × 10⁸ L⁻¹。

1.2.3 酵母菌 T₁₇ 液体菌种 将 28 培养好的 T₁₇ 斜面菌种用无菌水制成菌悬液, 转入装有 150 mL 无菌水的三角瓶中, 充分摇匀(T₁₇ 为 6.4 × 10⁶ L⁻¹) 即可。

1.2.4 鲜苹果渣固态发酵 固态发酵设未灭菌鲜苹果渣直接发酵(A 处理)和灭菌鲜苹果渣发酵(B 处理)两个处理, 每个处理下设单菌与混菌及有氮与无氮分处理, 以未接菌为对照(CK)。

未灭菌鲜苹果渣发酵(A 处理): 称 50 g 鲜苹果渣于干热灭菌广口瓶中, 无菌操作接入无菌 NH₄NO₃ (无菌三角瓶+ NH₄NO₃+ 乙醚, 乙醚挥发后加无菌水溶解)至 5 g/L 或无氮; 单菌发酵每瓶接 5 mL 酵母菌菌悬液, 混菌发酵每瓶接 5 mL 酵母菌菌液和 2 mL UA8 孢子悬液, 用无菌竹签充分搅匀, 无菌纱布包扎, 28 培养 3 d。

灭菌苹果渣发酵(B 处理): 称 50 g 鲜苹果渣于未灭菌广口瓶中, 121 灭菌 40 min, 加入无菌 NH₄NO₃ 至 5 g/L 或无氮, 冷却后的接菌处理及其余操作与未灭菌鲜苹果渣发酵完全相同。

1.2.5 不同 pH 鲜苹果渣固态发酵 设 pH = 4 和 pH = 6 两个处理, 均采用固态混菌加氮发酵(果渣

原料仍设未灭菌和灭菌发酵两个处理)。pH 4 处理, 直接称取鲜苹果渣即可(自然鲜苹果渣的 pH = 4); pH 6 处理, 加入无菌石灰粉(Ca(OH)₂, 干热灭菌)将鲜苹果渣 pH 值调至 pH = 6(微酸性)。其余称样、灭菌、加氮和接种操作同 1.2.4。

1.2.6 发酵产物回收率测定 将发酵好的样品在 100 烘干, 称重, 按“回收率/% = (发酵产物干重/原料干重) × 100%”计算回收率。

1.2.7 发酵产物纯蛋白质测定 将烘干样品粉碎, 过 0.3 mm 筛, 称取样品 0.500 0 g 于小三角瓶中, 加蒸馏水 10 mL, 加饱和 CaCl₂ 1 mL, 质量分数 10% K₂HPO₄ 2 mL (出现白色絮凝物), 加热至煮沸后保持 15 min, 用小漏斗过滤, 再用 50 mL 蒸馏水洗涤滤纸上的样品至无 NH₄⁺, 将滤纸上的过滤物打成小纸包放入消煮管中烘干, 加 13 mL 浓 H₂SO₄, 3 g 混合催化剂, 以小漏斗盖住消煮管口, 120 炭化 24 h, 按开氏法定氮, 换算成蛋白含量^[6]。每处理重复 3 次。

2 结果与讨论

2.1 不同发酵处理接入菌的生长状况

从表 1 可以看出, A 处理的菌体生长情况优于 B 处理, 加氮处理的菌体生长情况优于无氮处理, 混菌处理优于单菌处理。

表 1 不同处理接入菌的生长状况(培养 3 d)

Table 1 The growth condition of stains tested in different treatments (culture 3 days)								
接入菌 Stains	未灭菌苹果渣(A) Pomace without sterilization(A)				灭菌苹果渣(B) Pomace with sterilization(B)			
	单菌(T _n) Single stain(T _n)		混菌(T _n + UA8) Mixed stain (T _n + UA8)		单菌(T _n) Single stain(T _n)		混菌(T _n + UA8) Mixed stain (T _n + UA8)	
	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen
T ₂	-	-	++	+	-	-	+	-
T ₈	+	+	+++	+	-	-	++	-
T ₉	-	-	+	+	-	-	+	-
T ₁₂	-	-	++	+	-	-	+	-
T ₁₇	-	-	++	+	-	-	+	-
UA8	+++	+++			++	+		
CK	-	-			-	-		

注: -, +, ++ 及 +++ 分别表示培养物外观无明显变化、菌体开始生长、菌体明显可见及菌体生长繁茂。
Note: -, +, ++ and +++ indicated that medium had no notable change, stains began to grow, stains was clear to observe and stains was very lush

2.2 发酵产物纯蛋白含量

2.2.1 供试菌发酵对产物纯蛋白含量的影响 从表 2 可以看出, 接入供试菌发酵能显著提高苹果渣中的纯蛋白含量。在 A 处理中, 单菌有氮和无氮处理的发酵产物纯蛋白平均增加量与增加率, 酵母菌分别为 25.1 g/kg 与 56.5% 和 14.0 g/kg 与 31.7%, 黑曲霉 UA8 分别为 61.2 g/kg 与 137.8% 和 34.0 g/kg 与 77.1%; 在混菌有氮和无氮处理中, 黑曲霉 UA8 和酵母菌混合发酵产物的纯蛋白平均增加量与增加率分别为 56.8 g/kg 与 127.9% 和 17.5 g/kg 与 39.7%。B 处理中, 加氮对发酵产物纯蛋白的影响小, 如单菌有氮和无氮处理的酵母菌发酵产物纯蛋白平均增加量与增加率分别为 9.6 g/kg 与 24.2% 和 4.0 g/kg 与 10.2%, 黑曲霉 UA8 处理分别为 35.4 g/kg 与 103.5% 和 30.8 g/kg 与 78.6%; 混菌有氮和无氮处理黑曲霉 UA8 和酵母菌混合发酵产物纯蛋白平均增加量与增加率分别为

36.4 g/kg 与 91.9% 和 25.1 g/kg 与 64.0%。

比较表 2 中 A 处理与 B 处理的发酵产物纯蛋白含量可知, 在加氮混菌发酵处理(酵母菌+UA8)中, A 处理与 B 处理发酵产物纯蛋白增加量和增加率分别为 56.8 g/kg 与 127.9% 和 36.4 g/kg 与 91.9%, A 处理的增幅和增率远高于 B 处理。由此可知, 果汁厂榨汁后的鲜苹果渣直接接入发酵剂进行发酵, 省去了灭菌过程, 既节约能源, 减少工艺环节, 又能获得较高的蛋白质产量, 该工艺在生产上有重要的应用价值。在酵母菌和 UA8 的单菌加氮发酵中, A 处理与 B 处理发酵产物纯蛋白含量分别为 25.1 与 9.6 g/kg 和 61.2 与 35.4 g/kg, A 处理加氮发酵远高于 B 处理; 无氮时 A 处理与 B 处理的蛋白质含量变化趋势与之基本相同。表 2 还表明, 鲜苹果渣加氮直接接菌发酵是提高果渣蛋白质含量的一种有效且简便的生物技术, 值得尽快在生产上推广。

表 2 供试菌发酵产物的纯蛋白含量

Table 2 The protein content of fermentation product of stains

发酵结果 Fermmentation results	未灭菌苹果渣(A) Pomace without sterilization(A)				灭菌苹果渣(B) Pomace with sterilization(B)			
	单菌(T _n) Single stain(T _n)		混菌(T _n +UA8) Mixed stain (T _n +UA8)		单菌(T _n) Single stain(T _n)		混菌(T _n +UA8) Mixed stain (T _n +UA8)	
	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen
酵母菌增加量/(g·kg ⁻¹) Increment of yeast	25.1	14.0	56.8	17.5	9.6	4.0	36.4	25.1
酵母菌增加率/% Increment rate of yeast	56.5	31.7	127.9	39.7	24.2	10.2	91.9	64.0
UA8 增加量/(g·kg ⁻¹) Increment of UA8	61.2	34.0	-	-	35.4	30.8	-	-
UA8 增加率/% Increment rate of UA8	137.8	77.1	-	-	103.5	78.6	-	-

注: (1) 未灭菌苹果渣有氮、无氮不接菌处理纯蛋白含量分别为 44.4 和 44.1 g/kg; 灭菌苹果渣有氮、无氮不接菌处理纯蛋白含量分别为 39.6 和 39.2 g/kg。 (2) 发酵产物纯蛋白增加量= 接菌处理- 未接菌处理; 发酵产物纯蛋白增加率/%= (发酵产物纯蛋白增加量/未接菌处理) × 100%。

Note: (1) The protein content of treatment adding nitrogen and without nitrogen was 44.4 and 44.1 g/kg respectively, pomace did not sterilize and inoculate; The protein content of treatment adding nitrogen and without nitrogen was 39.6 and 39.2 g/kg respectively, pomace had been sterilized and did not inoculate. (2) The protein increment of fermentation product= treatment of non inoculation-treatment of inoculation; The increment rate of fermentation product/%= (the protein increment of fermentation product/treatment of no inoculation) × 100%.

2.2.2 单菌与混菌处理发酵产物纯蛋白含量 从表 3 可以看出, 无论是 A 处理还是 B 处理, 有氮或无氮, 酵母菌与 UA8 混菌处理的纯蛋白含量高于酵母菌单菌处理。A 处理中接入混菌和单菌, 混菌发酵加氮处理和酵母菌单菌加氮处理发酵产物纯蛋白平均含量分别为 101.2 和 69.5 g/kg, 混菌发酵导致的蛋白质增加量与增加率分别为 31.7 g/kg 与 45.6%; 混菌和酵母菌单独发酵无氮处理发酵产物

纯蛋白平均含量分别为 61.6 和 58.1 g/kg, 混菌发酵导致蛋白质增加量与增加率分别为 3.5 g/kg 与 6.0%; 黑曲霉 UA8 单菌发酵有氮和无氮处理发酵产物纯蛋白平均含量分别为 105.6 和 78.1 g/kg, 加氮的 B 处理中, 酵母菌混菌和单菌的发酵产物纯蛋白平均含量分别为 76.0 和 49.2 g/kg, 混菌发酵导致的蛋白质增加量与增加率分别为 26.8 g/kg 与 54.5%; 无氮处理中酵母菌混菌和单菌的发酵产物

纯蛋白平均含量分别为 64.3 和 43.2 g/kg, 混菌发酵导致的蛋白质增加量与增加率分别为 21.1 g/kg 与 48.8%; 黑曲霉单菌发酵时有氮和无氮处理发酵产物纯蛋白平均含量分别为 75.0 和 70.0 g/kg。酵母菌和黑曲霉混合发酵的纯蛋白含量显著高于酵母菌单独发酵, 表明黑曲霉所产纤维素酶、果胶酶和糖化酶对果渣中的高分子碳水化合物水解有一定的作用, 产生较多小分子还原糖, 促进了酵母菌生长繁殖, 进而提高了发酵产物的蛋白质含量。

表 3 不同处理发酵产物纯蛋白含量

Table 3 The protein content of fermentation product in different treatments													
处理 Treatment	菌株 Stain	单菌(T _n) Single stain(T _n)				混菌(T _n + UA8) Mixed stain(T _n + UA8)				混菌- 单菌 Mixed stain-single stain			
		有氮/ (g· kg ⁻¹) With nitrogen	无氮/ (g· kg ⁻¹) Without nitrogen	ΔN/ (g· kg ⁻¹)	ΔN %	有氮/ (g· kg ⁻¹) With nitrogen	无氮/ (g· kg ⁻¹) Without nitrogen	ΔN/ (g· kg ⁻¹)	ΔN %	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	Δ	Δ%
未灭菌 苹果渣 (A) Pomace without sterilization (A)	T ₂	65.6	57.5	8.1	14.1	103.8	60.0	43.8	73.0	38.2	58.2	2.5	4.3
	T ₈	71.9	59.4	12.5	21.0	104.4	64.4	40.0	62.1	32.5	45.2	5.0	8.4
	T ₉	67.5	56.9	10.6	18.6	98.8	60.0	38.8	64.7	31.3	46.4	3.1	5.4
	T ₁₂	70.6	60.6	10.0	16.5	92.5	63.8	28.7	45.0	21.9	31.0	3.2	5.3
	T ₁₇	71.9	56.0	15.9	28.4	106.3	60.0	46.3	77.2	34.4	47.8	4.0	7.1
	酵母菌均值 Average value of yeast	69.5	58.1	11.4	19.6	101.2	61.6	39.6	64.3	31.7	45.6	3.5	6.0
	UA8	105.6	78.1	27.5	35.2	-	-	-	-	-	-	-	-
灭菌苹果渣(B) Pomace with sterilization (B)	CK	44.4	44.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T ₂	48.8	43.1	5.7	13.2	77.5	68.1	9.4	13.8	28.7	58.8	25.0	58.0
	T ₈	48.1	45.6	2.5	5.5	85.6	69.4	16.2	23.3	37.5	78.0	23.8	52.2
	T ₉	59.4	44.4	15.0	33.8	70.0	54.4	15.6	28.7	10.6	17.8	10.0	22.5
	T ₁₂	45.5	42.5	3.0	7.1	72.5	65.6	6.9	10.5	27.0	59.3	23.1	54.4
	T ₁₇	44.4	40.6	3.8	9.4	74.4	63.8	10.6	16.6	30.0	67.6	23.2	57.1
	酵母菌均值 Average value of yeast	49.2	43.2	6.0	13.9	76.0	64.3	11.7	18.2	26.8	54.5	21.1	48.8
	UA8	75.0	70.0	5.0	7.1	-	-	-	-	-	-	-	-
	CK	39.6	39.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注: ΔN = 有氮处理- 无氮处理; ΔN % = (ΔN/无氮处理) × 100%; Δ = 混菌处理- 单菌处理; Δ% = (Δ/单菌处理) × 100%。表 5 同。
Note: ΔN = treatment with nitrogen- treatment without nitrogen; ΔN % = (ΔN/treatment without nitrogen) × 100%; Δ = treatment of mixed stain- treatment of single stain; Δ% = (Δ/treatment of single stain) × 100%. The same as table 5

2.2.3 加氮对发酵产物纯蛋白含量的影响 从表 3 还可以看出, 所有加氮处理的纯蛋白含量均高于无氮处理。在 A 处理中, 单菌有氮和无氮处理时酵母菌发酵产物纯蛋白平均含量分别为 69.5 和 58.1 g/kg, 加氮引起的蛋白质增加量与增加率分别为 11.4 g/kg 与 19.6%; 接入黑曲霉 UA8 时有氮和无氮处理纯蛋白平均含量分别为 105.6 和 78.1 g/kg, 加氮引起的蛋白质增加量与增加率分别为 27.5 g/kg 与 35.2%。混菌有氮和无氮处理时酵母菌发酵产物纯蛋白平均含量分别为 101.2 和 61.6 g/kg, 加氮引起的蛋白质增加量与增加率分别为 39.6 g/kg 与 64.3%。由此可知, 在用鲜苹果渣不灭菌直接发酵时, 加氮能显著提高发酵产物中纯蛋白含量。B 处理

中, 加氮对发酵产物纯蛋白含量的影响与 A 处理类似, 但蛋白质增量和增幅较小。以上研究表明, 加入无机氮源调节发酵原料 C/N, 给微生物提供充足氮源, 能显著提高发酵产物蛋白质含量。
2.2.4 灭菌对发酵产物纯蛋白含量的影响 从表 3 可以看出, 除混菌无氮处理, A 处理发酵产物纯蛋白含量低于 B 处理外, 其余 A 处理发酵产物纯蛋白含量均高于 B 处理。在单菌有氮 A 处理和 B 处理中, 酵母菌发酵产物纯蛋白平均含量分别为 69.5 和 49.2 g/kg, 直接发酵较灭菌发酵纯蛋白的增加量和增加率分别为 20.3 g/kg 和 41.3%; 接入黑曲霉 UA8 时纯蛋白平均含量分别为 105.6 和 75.0 g/kg, 直接发酵较灭菌发酵纯蛋白的增加量和增加

率分别为 30.6 g/kg 和 40.8%。在单菌无氮及混菌有氮、无氮处理中, 酵母菌与黑曲霉 UA 8 的 A 处理和 B 处理纯蛋白平均含量变化趋势与单菌有氮发酵处理相同。A 处理中由于苹果渣本身存在大量微生物作用, 同时这些微生物也影响后接入微生物的生长, 从而使发酵产物中纯蛋白含量高于 B 处理。另外, 较长时间高温灭菌也会破坏果渣中的维生素, 使果渣中的部分有效糖转化为微生物不能利用的非发酵糖, 从而影响微生物的生长和菌体蛋白质合成, 导致发酵产物中纯蛋白含量下降。

2.2.5 不同菌株对发酵产物纯蛋白含量的影响

从表 3 可以看出, 不同菌株发酵产物蛋白质含量不同, 如黑曲霉 UA 8 的纯蛋白含量高于其他 5 株酵母菌; 混菌不同菌株组合发酵产物纯蛋白含量不同, 但无明显差异。在单菌有氮 A 处理中, 供试菌纯蛋白含量按 UA 8 > T 8, T 17 > T 12 > T 9 > T 2 排列; 在单菌无氮处理及单菌有氮、无氮 B 处理中, 各菌株纯

蛋白含量排序与之类似。由此可知, 供试的 5 株菌均可用于苹果渣饲料蛋白的生产。

2.2.6 不同 pH 鲜苹果渣发酵产物纯蛋白含量

从表 4 可以看出, 在所有处理中, 发酵产物纯蛋白含量均表现为 pH 4 高于 pH 6。A 处理中, 果渣酸度为 pH = 4 和 pH = 6 时, 酵母菌发酵产物中纯蛋白平均含量分别为 101.2 和 75.9 g/kg, 自然果渣(酸性)发酵产物蛋白质含量较 pH = 6 处理提高 25.3 g/kg, 增加率为 33.3%; B 处理中, pH = 4 和 pH = 6 时酵母菌发酵产物纯蛋白平均含量分别为 76.0 和 51.9 g/kg, 自然果渣酸化引起的发酵产物蛋白质增加量与增加率分别为 24.1 g/kg 与 46.4%, 表明鲜苹果渣在 pH = 4 时更有利于发酵和提高纯蛋白含量。发酵接入的酵母菌和黑曲霉均为真菌, 最适生长 pH 为 4~5。鲜苹果渣的自然 pH 约为 4, 故直接用鲜苹果渣发酵生产饲料蛋白既省能源, 效果又好。

表 4 不同 pH 值苹果渣发酵产物纯蛋白含量

Table 4 The protein content of fermentation product of different pH pomace

处理 Treatment	未灭菌苹果渣(A) Pomace without sterilization (A)				灭菌苹果渣(B) Pomace with sterilization (B)			
	纯蛋白含量/(g · kg ⁻¹) The protein content of fermentation			Δ%	纯蛋白含量/(g · kg ⁻¹) The protein content of fermentation			Δ%
	pH 6	pH 4	Δ		pH 6	pH 4	Δ	
T ₂ + UA 8	72.5	103.8	31.3	43.2	56.3	77.5	21.2	37.7
T ₈ + UA 8	76.3	104.4	28.1	36.8	51.3	85.6	34.3	66.9
T ₉ + UA 8	77.5	98.8	21.3	27.5	45.0	70.0	25.0	55.6
T ₁₂ + UA 8	81.3	92.5	11.2	13.8	62.3	72.5	10.2	16.4
T ₁₇ + UA 8	71.9	106.3	34.4	47.8	44.4	74.4	30.0	67.6
酵母菌均值 Average of yeast	75.9	101.2	25.3	33.3	51.9	76.0	24.1	46.4
CK	42.0	44.4	2.4	5.7	38.5	39.6	1.1	2.9

注: Δ= pH 4 处理蛋白质含量- pH 6 处理蛋白质含量; Δ%= (Δ/pH 6 处理蛋白质含量) × 100%。

Note: Δ= the protein content of pH 4 treatment- the protein content of pH 6 treatment; Δ%= (Δ/ the protein content of pH 6 treatment) × 100%.

2.3 不同处理发酵产物的回收率

2.3.1 单菌与混菌对发酵产物回收率的影响 发酵产物回收率用于评价生产原料通过发酵转化为发酵产品的效率。从表 5 可以看出, 在所有处理中, 单菌发酵产品的回收率均高于混菌发酵。如: 有氮的 A 处理中, 酵母菌单菌和混菌发酵产物平均回收率分别为 94.2% 和 60.2%, 单菌较混菌发酵回收率绝对值高 34.0%, 增幅达 56.5%; 在无氮的 A 处理及加氮和无氮的 B 处理中, 单菌和混菌发酵产物的回收率与加氮 A 处理类似。从表 1 可知, 混菌处理微生

物生长状况优于单菌, 产物中蛋白质含量高, 同时也利用了更多的碳水化合物, 故混菌处理发酵产物的回收率显著低于单菌发酵。

2.3.2 加氮对发酵产物回收率的影响 从表 5 可以看出, 在所有处理中, 有氮处理发酵产物回收率低于无氮处理。如: A 处理单菌发酵中, 酵母菌有氮和无氮处理发酵产物平均回收率分别为 94.2% 和 97.0%, 有氮处理回收率的绝对值较无氮处理降低 2.8%, 降幅 3.0%; 接入黑曲霉 UA 8 时有氮和无氮处理回收率分别为 62.2% 和 81.0%, 加氮处理回收

率的绝对值较无氮处理降低 18.8%, 降幅达 30.2%; 在 A 处理混菌发酵中, 有氮和无氮处理的发酵产物平均回收率分别为 60.2% 和 82.4%, 加氮处理回收率的绝对值较无氮处理降低 22.2%, 降幅达 36.9%。B 处理中氮对发酵产物回收率的影响与 A 处理类似。在苹果渣发酵中, 加入氮素后微生物生长良好, 合成的菌体蛋白质多, 消耗的碳水化合物多, 导致发酵产品回收率降低。

表 5 不同处理发酵产物的回收率

Table 5 Rate of Recovery of fermentation product in different treatments													%
处理 Treatment	菌株 Stain	单菌(Tn) Single stain(Tn)				混菌(Tn+ UA 8) Mixed stain(Tn+ UA 8)				单菌- 混菌 Single stain- Mixed stain			
		有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	ΔN	ΔN %	有氮 With nitrogen	无氮 Without nitrogen	ΔN	ΔN %	有氮 With nitrogen		无氮 Without nitrogen	
										Δ	Δ%	Δ	Δ%
未灭菌 苹果渣 (A) Pomace without sterili- zation (A)	T ₂	96.5	98.9	2.4	2.5	66.6	82.3	15.7	23.6	29.9	44.9	16.6	20.2
	T ₈	89.3	91.8	2.5	2.8	61.4	82.2	20.8	33.9	27.9	45.4	9.6	11.7
	T ₉	96.5	97.3	0.8	0.8	59.4	83.1	23.7	39.9	37.1	62.5	14.2	17.1
	T ₁₂	90.8	98.3	7.5	8.3	57.3	81.9	24.6	42.9	33.5	58.5	16.4	20.0
	T ₁₇	98.1	98.6	0.5	0.5	56.0	82.4	26.4	47.1	42.1	75.2	16.2	19.7
	酵母菌均值 Average value of yeast	94.2	97.0	2.8	3.0	60.2	82.4	22.2	36.9	34.0	56.5	14.6	17.7
	UA 8	62.2	81.0	18.8	30.2	-	-	-	-	-	-	-	-
	CK	99.5	99.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
灭菌苹 果渣(B) Pomace with sterili- zation (B)	T ₂	98.4	99.4	1.0	1.0	79.5	81.7	2.2	2.8	18.9	23.8	17.7	21.7
	T ₈	98.7	99.1	0.4	0.4	72.8	81.9	9.1	12.5	25.9	35.6	17.2	21.0
	T ₉	97.9	98.5	0.6	0.6	89.9	92.5	2.6	2.9	8.0	8.9	6.0	6.5
	T ₁₂	96.7	99.3	2.6	2.7	80.4	83.3	2.9	3.6	16.3	20.3	16.0	19.2
	T ₁₇	99.1	99.4	0.3	0.3	87.6	91.0	3.4	3.9	11.5	13.1	8.4	9.2
	酵母菌均值 Average value of yeast	98.2	99.1	0.9	0.9	82.1	86.1	4.0	4.9	16.1	19.6	3.0	3.5
	UA 8	81.3	87.0	5.7	6.6	-	-	-	-	-	-	-	-
	CK	100	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.3.3 灭菌对发酵产物回收率的影响 从表 5 可以看出,A 处理发酵产物的回收率低于 B 处理。单菌有氮处理中,A 处理和 B 处理酵母菌发酵产物回收率平均值分别为 94.2% 和 98.2%, 黑曲霉 UA 8 的发酵产物回收率分别为 62.2% 和 81.3%。在单菌无氮的 A 处理和 B 处理中, 酵母菌发酵产物回收率平均值分别为 97.0% 和 99.1%, 黑曲霉 UA 8 的发酵产物回收率分别为 81.0% 和 87.0%。在混菌有氮的 A 处理和 B 处理中, 酵母菌发酵产物回收率平均值分别为 60.2% 和 82.1%, 其无氮处理酵母菌发酵产物回收率平均值分别为 82.4% 和 86.1%。由此可知,A 处理和 B 处理产品回收率的差异在有氮时表现更为明显, 这与有氮时菌体生长良好有关。

3 结 论

(1) 鲜苹果渣接菌发酵后, 发酵产物纯蛋白含量明显高于未接菌处理; 黑曲霉和酵母菌混合发酵产物纯蛋白含量高于酵母菌单菌发酵, 表明鲜苹果渣

接菌发酵是提高果渣纯蛋白含量的有效途径, 在混菌发酵条件下, 蛋白质提高幅度更大。

(2) 在鲜苹果渣发酵中, 加入无机氮源调节 C/N, 为微生物提供了充足的氮源, 能有效提高发酵产物纯蛋白含量。

(3) 用鲜苹果渣直接发酵(未灭菌)时, 发酵产物纯蛋白含量高于灭菌鲜苹果渣发酵, 表明鲜苹果渣更有利于微生物生长及发酵产物纯蛋白含量的提高, 同时可简化工艺, 节约能源。

(4) 在单菌发酵中, 黑曲霉 UA 8 发酵产物的纯蛋白含量高于其他 5 株酵母菌, 混菌不同菌株组合的纯蛋白含量不同, 但不同菌株间无明显差异, 即供试菌株均可用于果渣发酵生产饲料蛋白。

(5) 鲜苹果渣发酵产物回收率与其纯蛋白含量呈负相关, 即发酵产物中纯蛋白含量越高, 其回收率则越低。

(6) 鲜苹果渣在自然酸度(pH 4)下发酵时, 发酵产物纯蛋白含量高于加碱处理(pH 6), 供试菌的

这一特性有利于苹果渣发酵饲料的生产。

[参考文献]

- [1] 王淑军, 杨从发, 蔺先明, 等. 固态发酵甘薯渣生产单细胞蛋白[J]. 粮食与饲料工业, 1995, (11): 17- 32
- [2] 徐坚平, 刘均松, 孔 维. 利用秸秆类物质进行微生物发酵生产单细胞蛋白[J]. 微生物学通报, 1995, 22(4): 223- 225
- [3] 张博润, 刘伟平, 刘玉方, 等. 发酵白酒糟生产饲料蛋白的优良菌种的筛选[J]. 微生物学报, 1997, 37(4): 130- 134
- [4] 徐立平, 高孔荣. 利用食品厂废渣发酵生产单细胞蛋白[J]. 食品与发酵工业, 1994, (2): 63- 66
- [5] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 1998
- [6] 南京农业大学. 土壤农化分析[M]. 北京: 农业出版社, 1981

The fermentation of fresh pomace producing feeding-protein

CHANG Xian-bo¹, XUE Quan-hong¹, LAI Hang-xian¹,
YUE Tian-li², XIN Jian-kang¹

(1 College of Resources and Environmental Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Food Science and Engineering, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The effect was studied by mixed culture on adding some inorganic nitrogen and inoculation about feeding protein content of fresh pomace with sterilization and without sterilization. The result showed:

The protein content of fresh pomace inoculated was raised remarkably, in which the without sterilization and inoculation with *Aspergillus* UA 8 increased by 137. 8% compared with no inoculation in the fermentation. The protein content of fresh pomace after adding inorganic nitrogen was higher than that without inorganic nitrogen, the former that was not sterilized and inoculated with *Aspergillus* UA 8 was 35. 2% higher than the latter. The protein content decreased after the fresh pomace was sterilized. The protein content of fresh pomace inoculated with *Aspergillus* UA 8 and added inorganic nitrogen was 105. 6 and 75. 0 g/kg, in which the sterilized was 40. 8% higher than that without sterilization. The rate of recovery and the protein content were contrary. During the fermentation of fresh pomace without sterilization, the protein content of fresh pomace that inoculated with *Aspergillus* UA 8 was 105. 6 and 78. 1 g/kg in the circumstances of adding inorganic nitrogen and no nitrogen, and its rate of recovery was 62. 2% and 81. 0% respectively. The protein content presented the tendency of pH4> pH6 in the fermentation. The protein content of fresh pomace without sterilization and inoculation with yeast was 101. 2 and 75. 9 g/kg at pH4 and pH6, so the protein content in the product exceeded 33. 3% by natural acidification of pomace.

Key words: pomace; feeding-protein; feed fermentation; single cell protein; solid fermentation; yeast; *Aspergillus niger*