

油茶饼粕发酵条件的研究

邓桂兰

(广东轻工职业技术学院食品与生物工程系, 广东广州 510300)

摘要: 以油茶饼粕和血粉为主要原料, 以黑曲霉、米曲霉、绿色木霉和产朊假丝酵母组成的混合菌种为发酵剂, 研究了油茶饼粕进行菌体蛋白饲料生物转化时发酵条件和培养基原料配比对发酵产物菌体干重的影响。通过正交实验, 确定最佳培养基配比为: $m_{\text{茶粕}}:m_{\text{血粉}} = 17:3$, $m_{\text{料}}:V_{\text{水}} = 1:1.2$, 初始 pH 为 5.0~5.5; 最佳发酵条件为: 250 mL 三角瓶, 装料量 15 g, 总接种量 10%, 其中霉菌与酵母菌的接种比为 1:1, 培养时间为 4 d。在最佳培养基和发酵条件下, 得到的菌体干重为一最大值 21.25 g/L。

关键词: 油茶饼粕; 蛋白饲料; 发酵条件; 培养基配比

中图分类号: TS229; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)04-0363-03

Fermentation Conditions for Single Cell Protein Feed Production from Oil-tea-cake

DENG Gui-lan

(Department of Food Engineering, Guangdong Industry Technical College, Guangzhou 510300, China)

Abstract: The producing conditions of single cell protein feed from oil-tea-cake were studied by solid state fermentation. The optimal culture conditions were as follows: ratio of oil-tea-cake to swine blood power of 17:3, ratio of fermenting medium to water of 1:1.2, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ content of 2.0% and initial pH value of 5.0~5.5. The fermentation conditions were also optimized as follows: in 250 mL of a triangular flask, the loading volume of the fermentation medium of 15 g, inoculation size of 10%, the ratio of mildew to yeast of 1:1 and fermentation time of 4day. Under those conditions, the maximum dry cell weight was 21.25 g/L.

Key words: oil-tea-cake; single cell protein feed; fermentation condition; culture medium composition

蛋白质资源短缺是全世界面临的重大课题, 各国都在重视开发蛋白质资源。菌体蛋白是食品工业和饲料工业的重要蛋白质来源, 也是一条生产人类蛋白质食品资源的有效途径, 目前已发展成为与人类生存有密切关系的生物工程产业。我国每年可产油茶饼粕约 50 万吨, 但由于其味苦、有毒, 目前基本上被废弃, 造成了很大的资源浪费^[1]。因此探索如何将油茶饼粕转化为动物可以利用的营养价值高的蛋白饲料是一个值得研究的课题。

本实验以经去除茶皂素的油茶饼粕为原料, 采用霉菌(产生纤维素分解酶)和酵母菌组成的混合菌种进行发酵, 通过大量培养菌种细胞以获得菌体蛋白含量较高的菌体蛋白饲料, 这样即可使茶粕变废为宝, 又可缓解目前蛋白饲料短缺的问题。

1 实验材料

1.1 实验原料

收稿日期: 2008-01-19

作者简介: 邓桂兰(1978-), 女, 硕士, 讲师

油茶饼粕: 已去除茶皂素, 但没有经过其他特殊处理。

血粉: 由市售新鲜猪血经干燥粉碎后直接使用。

1.2 实验菌种

黑曲霉、米曲霉、绿色木霉、产朊假丝酵母: 均购于广东省微生物研究所。

1.3 培养基

1.3.1 斜面培养基

PDA 培养基: 用于霉菌培养; 麦芽汁琼脂培养基: 用于酵母菌培养。

1.3.2 液体种子培养基

(1) 霉菌: 可溶性淀粉 3.0%, 葡萄糖 2%, 蛋白胨 0.15%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5%, KH_2PO_4 0.3%, MgSO_4 0.15%, 自来水 1000 mL

(2) 酵母菌: 130 g 麦芽汁加水 1000 mL 配成 12°Bx 溶液, 供酵母增殖用。

1.3.3 固体发酵培养基

茶粕: 血粉为 17:3, 料:水为 1:1.2, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%, 培养基起始 PH 为 5.5。

2 实验方法

2.1 混合菌共发酵最佳培养基原料配比的确定

采用 $L_9(3^4)$ 正交表, 对茶粕与其他添加物的配比及培养基起始 pH 进行试验, 以确定最佳培养基^[2,3]。

250 mL 三角瓶装固体发酵培养基 15 g, 加水 20 mL, 接种量 10%, 霉菌与酵母菌按 1:1 接入菌悬液, 室温下培养 4 d。

培养结束后向三角瓶内加入 200 mL 蒸馏水, 30 °C 恒温水浴浸提 3 h, 过滤, 所得滤液用来测定菌体干重。将滤液全部移入离心管中于 3000 r/min 离心分离 10 min, 再将上清液和管底的沉淀物分离, 并将此沉淀物用蒸馏水洗涤三次, 收集到的即是菌体细胞。将菌体细胞置 65 °C 烘箱中烘干至恒重, 用电子天平称重^[4]。

2.2 混合菌共发酵最佳发酵条件的确定

采用 $L_9(3^3)$ 正交表, 研究固体发酵装料量, 培养时间, 总接种量及接种比(霉菌:酵母菌)对固体发酵培养基中粗蛋白含量的影响^[5-7], 从而确定最佳培养条件。

培养基选用经实验 2.1 中筛选出的最优培养基。250 mL 三角瓶, 装茶粕培养基 10 g (15 g, 20 g), 杀菌后将复合菌种以 5% (10%, 15%) 的总接种量接种于培养基上, 在室温下培养 2 d (3 d, 4 d)。

培养结束后向三角瓶内加入 200 ml 蒸馏水, 30 °C 恒温水浴浸提 3 h, 过滤, 所得滤液用来测定菌体干重。

3 结果分析

3.1 混合菌共发酵最佳培养基配比的确定

以收集到的菌体干重及茶粕粗纤维作为测试指标, 实验结果分别见表 1 及表 2。

表1 培养基配比正交实验的因素和水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment of medium rate

序号	A($m_{\text{茶粕}}:m_{\text{血粉}}$)	B($m_{\text{料}}:V_{\text{水}}$)	C(起始 Ph)	D/空白
1	19:1	1:1	5.5	0
2	18:2	1:1.2	6.0	0
3	17:3	1:1.4	6.5	0

从表2知, A因素水平3, B因素水平2, C因素水平1的菌体干重最高, 各影响因子按从大到小的顺序为B>A>C>D。最佳培养基配方为: $m_{\text{茶粕}}:m_{\text{血粉}}=17:3$, $m_{\text{料}}:V_{\text{水}}=1:1.2$, 起始pH为5.5。

表2 培养基配比正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D	菌体干重 (g/L)
1	1	1	1	1	14.92
2	1	2	2	2	16.43
3	1	3	3	3	13.15
4	2	1	2	3	15.78
5	2	2	3	1	17.60
6	2	3	1	2	14.27
7	3	1	3	2	15.11
8	3	2	1	3	19.85
9	3	3	2	1	13.59
K_1	14.83	15.27	16.35	15.37	-
K_2	15.88	17.96	15.27	15.27	-
K_3	16.18	13.67	15.29	16.26	-
R	1.35	4.29	1.08	0.99	-

3.2 混合菌共发酵最佳发酵条件的确定

表3 培养条件正交试验的因素和水平

Table 3 Factors and levels of orthogonal experiment of culture condition

序号	A(装料量/g)	B(培养时间/d)	C(接种量/%)	D($c_{\text{霉菌}}:c_{\text{酵母}}$)
1	10	2	5	1:1.5
2	15	3	10	1:1
3	20	4	15	1.5:1

表4 培养条件正交试验结果

Table 4 Results of orthogonal experiment of culture condition

实验号	A	B	C	D	菌体干重(g/L)
1	1	1	1	1	7.85
2	1	2	2	2	19.37
3	1	3	3	3	17.24
4	2	1	2	3	13.31
5	2	2	3	1	9.94
6	2	3	1	2	21.25
7	3	1	3	2	15.90
8	3	2	1	3	15.68
9	3	3	2	1	14.32
K_1	14.82	12.35	14.93	10.70	-
K_2	14.83	15.00	15.67	18.84	-
K_3	15.30	17.60	14.36	15.41	-
R	0.48	5.25	1.31	8.14	-

以收集到的菌体干重及茶粕粗纤维作为测试指标, 实验结果分别见表 3 及表 4。

从表 4 中的极差分析结果可以看出, 影响因子按

从大到小的顺序为 D>B>C>A, 即霉菌与酵母菌的接种比对菌体干重的影响最大, 其次是培养时间, 接种量和装料量对菌体干重的影响最小; 最优的发酵条件是 A₂B₃C₁D₂, 即装料量为 15 g, 培养时间为 4 d, 接种量为 10%, 霉菌与酵母菌的接种比为 1:1。

4 讨论与结论

油茶饼粕中的粗纤维在黑曲霉、米曲霉和绿色木霉等霉菌产生的纤维素酶作用下, 降解生成可被酵母菌利用的糖类物质, 为酵母菌增殖提供碳源; 血粉在霉菌, 特别是米曲霉的作用下可生成直接被菌种细胞利用的氮类物质, 为酵母菌增殖提供氮源。酵母菌在油茶饼粕和血粉共同提供的营养物质的作用下, 能够较好的生长繁殖, 并可获得较多的菌体干重。

通过混合菌共发酵的正交试验结果, 确定最佳培养基配比为: $m_{\text{茶粕}}:m_{\text{血粉}}=17:3$, $m_{\text{料}}:V_{\text{水}}=1:1.2$, 初始 pH 调整为 5.0~5.5; 最佳发酵条件为: 250 mL 三角瓶, 装料量 15 g, 总接种量 10%, 其中霉菌与酵母菌的接种比为 1:1, 培养时间为 4 d。油茶饼粕在最佳培养基

和发酵条件下, 收集到的菌体干重为一最大值 21.25 g/L。

参考文献

- [1] 张庆华,黄文鑫.福建省主要油茶产区油茶立地生产力研究[J].福建林学院学报,1984,4(2):7-16
- [2] 高大威,李瑛.发酵生产蛋白饲料中培养基原料配比的实验研究.燕山大学学报,2002,26(3):270-272
- [3] 白玉明等.固态发酵酿造糟渣制备菌体蛋白饲料.山西大学学报(自然科学版),1996(4):440-445
- [4] 刘健,陈庆森. X. ampelina TS206 发酵制备冰核活性蛋白的研究[J]. 生物技术,2000,12(6):33
- [5] 郭维烈,等.4320 菌体蛋白饲料中双菌作用机制的研究.农业工程学报,2002,18(1):122-126
- [6] 叶生梅.多菌联合固态发酵生产酒糟菌体蛋白饲料的实验研究.安徽机电学院学报,2001,16(4):40-42
- [7] 周晓云,王飞雁.食品工业废渣以发酵技术生产菌体蛋白饲料的研究.中国环境科学,1998,18(3):223-226

(上接第 362 页)

3.2 对原料乳的杀菌处理是酸奶生产中至关重要的一个环节, 杀菌的好坏直接影响发酵的好坏, 如果杀菌不彻底, 造成杂菌过多, 会严重影响乳酸菌的发酵产酸。试验表明, 采取 90~95 °C 水浴条件下杀菌 10 min, 不单节约能源, 降低成本, 而且酸奶的质量也很好。

3.3 发酵剂的质量以及添加量直接决定发酵酸奶的质量好坏。试验表明, 当保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌混合菌的比例为 1:1, 活力>0.7, 添加量为 3%时, 生产出的酸奶品质优良, 质量稳定。

3.4 严格控制发酵的温度和时间对酸奶的生产也是很重要的。试验表明, 在 43 °C 条件下, 发酵 4.5 h 能生产出质量好的酸奶。

3.5 冷却的目的是使凝固后的酸奶的温度尽快降至 10 °C 以下。5 °C 以下发酵菌种几乎处于休眠状态, 可以较好地控制酸奶产品的最终滴定酸度。试验表明, 冷却速度越快, 乳清析出越少, 酸奶品质越好。

参考文献

- [1] 金世琳.乳与乳产品生产[M].北京:轻工业出版社,1987

- [2] 曾寿瀛.现代乳与乳制品加工技术[M].北京:中国农业出版社,2003
- [3] Tamime Ayrobinson R K. Yoghurt Science and Technology [M]. Oxford Pergamon Press Ltd,1999
- [4] 黄伟坤.食品检验与分析[M].北京:中国轻工出版社,1997
- [5] 谢继志,范立冬.液态乳制品科学与技术[M].北京:中国轻工业出版社,1999
- [6] 谢继志,葛庆丰.影响酸奶的因素及其质量控制[J].中国乳品工业,2001(6):20-24
- [7] 郭清泉,张兰威,王艳梅.酸奶发酵机理及后发酵控制措施[J]. 中国乳品工业,2001(2):17-19
- [8] Lyng R M ,Snadine W E. Influence of temperature on as sociative growth of streptococcus thermophilus and lactobacillus bulganricus[J]. Dairy Sci,1986,69(10):2558-2568
- [9] Jorrianis, Gardinif, Guerzonime. Use of response surface methodology to evaluate some variables affecting the growth and acidification [J]. Dairy Journal,1996,6(6):625~636
- [10] 郭本恒.酸奶[M].北京:化学工业出版社,2003