动物营养学报 2015,27(4):1191-1198
Chinese Journal of Animal Nutrition

doi:10.3969/j.issn.1006-267x.2015.04.024

复合益生菌固态发酵改善甘薯渣营养价值的研究

赵　华[1]　王雪涛[1*]　汤加勇[1]　汤小朋[1]　贾　刚[1]
刘光芒[1]　陈小玲[1]　龙定彪[2]　王康宁[1]
(1.四川农业大学动物营养研究所,成都 611130;2.重庆市畜牧科学院,重庆 402460)

摘　要: 本试验旨在研究采用多种微生物混合固态发酵对甘薯渣营养价值的影响,并探讨其最佳发酵工艺参数。采用单因素试验设计,对4类菌种共12株菌种进行单菌发酵,从中筛选1株发酵效果最优菌株作为混菌发酵的主菌种,与其他3类菌株进行不同组合发酵,筛选最佳菌种组合。采用正交试验设计,考察发酵时间、发酵温度、料水比、接种量及菌种接种比例对甘薯渣营养价值影响。结果表明:1)在发酵温度38 ℃,发酵时间4.5 d,料水比1∶1.3,接种量1×10^6个/g,接种比例黑曲霉2∶里氏木霉∶枯草芽孢杆菌1∶酿酒酵母1=1∶1∶2∶1条件下发酵效果最好。2)在混菌发酵后,以干物质为基础,粗蛋白质含量从6.37%提高到9.75%;粗脂肪含量从2.71%提高到4.92%;发酵后还原糖含量达到8.22%,羧甲基纤维素酶、滤纸酶、β-葡萄糖苷酶和淀粉酶活性分别为4.26、3.29、3.75和5.15 U/g DM。由此可见,农副产品甘薯渣经过微生物混菌固态发酵后可以有效改善其营养品质。

关键词: 混合菌种;固态发酵;甘薯渣;营养价值
中图分类号:S816.35　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1006-267X(2015)04-1191-08

我国是甘薯生产大国,种植面积大,总产量高,分别占到全世界的70%和85%左右,年产量高达1.2亿t[1]。甘薯渣是甘薯加工中提取淀粉后的副产品,每年我国都有大量的甘薯渣产生,有资料显示,一个甘薯淀粉生产加工企业,每年产淀粉3 000 t,那么每年将会产生甘薯渣4 000 t以上。甘薯渣纤维素含量高,蛋白质含量低,同时水分含量很高,不易储存,并且极易受微生物污染而腐败变质,因此限制了其利用,通常是直接作为农家饲料加以简单利用或被当作废弃物丢弃。随着我国饲料资源的日益匮乏,人们开始关注甘薯渣的开发利用,以农副产品废弃物为原料,利用微生物固态发酵(solid-state fermentation, SSF)生产生物饲料逐渐受到人们的重视。目前我国对甘薯渣开发利用较多的是利用其发酵生产酒精、膳食纤维、果胶、柠檬酸、多聚γ-谷氨酸等[2-3]。国外对甘薯渣的应用主要是用于生产不饱和脂肪酸以及用单菌或混菌固态发酵甘薯渣富集蛋白质等[4-5]。有关甘薯渣固态发酵开发新饲料资源的研究报道较少,若通过菌种的筛选及复配,探讨甘薯渣的最佳发酵工艺参数,可望有效提高甘薯渣营养价值,开拓新的饲料资源。在此本研究拟以曲霉类、木霉类、芽孢杆菌类、酵母类4类共12种菌株对甘薯渣进行单菌发酵,从中筛选1株发酵效果好的菌株作为混菌发酵的主菌种,与其他3类筛选出的菌株进行复配,筛选最佳菌种组合,采用正交试验设计,对发酵时间、发酵温度、料水比、接种量及菌种复配比例等条件进行优化,筛选出适合甘薯渣发酵的工艺参数。研究结果可望为甘薯渣等低品质的非常规饲料原料的开发与利用提供有益参考。

收稿日期:2014-11-21
基金项目:四川农业大学双支计划;四川科创饲料产业技术研究院基金(2013NZ0054)
作者简介:赵　华(1974—),男,四川雅安人,副研究员,博士,硕士生导师,主要研究方向为营养与分子生物学。E-mail: zhua666@126.com
*同等贡献作者

1 材料与方法

1.1 菌种与培养基

发酵菌种:本试验所用菌种均为购买或获赠于其他实验室,共 12 株,包含曲霉菌 3 株,木霉菌 2 株,枯草芽孢杆菌 4 株,酵母菌 3 株。菌种保存在 4 ℃冰箱,每 3 个月活化 1 次。

发酵培养基:甘薯渣和菜籽粕按 9∶1 混匀,30 g装入 250 mL 广口瓶,121 ℃灭菌 20 min。木薯渣购于绵阳一淀粉加工厂,为提取淀粉后的残渣,粗蛋白质含量为 1.76%,粗纤维含量为 8.80%;菜籽粕购于四川省雅安市农牧市场,粗蛋白质含量为 36.93%,粗纤维含量为 12.27%。

1.2 最适单菌种的筛选及菌种复配筛选

采用单因子试验设计,4 类共 12 株菌种分别接种于甘薯渣发酵培养基进行单菌发酵。发酵条件为接种量 1×10^6 个/g,加水 60%,温度 30 ℃,发酵 4 d,pH 自然,每株菌重复 3 次,以未添加菌液的空白发酵组为对照。考察发酵前后粗蛋白质含量、羧甲基纤维素酶(carboxymethyl cellulose, CMCase)活性和还原糖含量变化,从曲霉类、木霉类、芽孢杆菌类、酵母类菌株中,各筛选 1 株最适发酵菌种,并以筛选出的 4 株菌中发酵效果最好的菌种作为主菌种(A),分别和其他的 3 株辅发酵菌种(B、C、D)进行双菌、三菌和四菌混菌复配筛选。各菌种的接种比例为 1∶1(1∶1∶1、1∶1∶1∶1),每组均设 3 个重复。发酵条件参考主发酵菌单因素发酵优化试验结果:接种量 1×10^6 个/g,发酵时间 4 d,料水比(m/V)1∶1.3,培养温度 38 ℃。最终以粗蛋白质含量为主要指标,CMCase 活性和还原糖为辅助指标,确定最优的菌种组合。

1.3 正交试验优发混菌发酵条件

采用正交设计进一步对发酵温度(A)、发酵时间(B)、料水比(C)、接种量(D)、菌种复配比例(E)进行 5 因素 4 水平的发酵条件优化($n=3$)。其中接种量、发酵时间、料水比、发酵温度水平设置参考主发酵菌单因素发酵条件优化试验结果。发酵结束后,取部分鲜样测定 CMCase 活性,剩余部分 65 ℃烘干,粉碎过 40 目筛,用于测定粗蛋白质和还原糖含量。

1.4 最优发酵条件发酵对甘薯渣营养价值的影响

根据正交试验设计优化出的混菌发酵参数,对甘薯渣进行固态发酵,设置 1 个对照组(不接种菌种),其他条件与试验组一致。每组设 3 个重复。发酵结束后,取部分鲜样测定 CMCase、滤纸酶(filter paper, FPA)、β-葡萄糖苷酶(β-glucosidase)、淀粉酶活性,剩余部分 65 ℃烘干,粉碎过 40 目筛,用于测定干物质、粗灰分、粗纤维、粗脂肪、粗蛋白质、还原糖含量。

1.5 指标测定

还原糖含量测定参照黄晓钰等[6]《食品化学综合实验》;水分、粗脂肪、粗蛋白质、粗灰分、粗纤维含量的测定参照张丽英[7]《饲料分析及饲料质量检测技术》;纤维素酶活性参照国标 GB/T 23881—2009[8]、何凤琴等[9]及汤小朋等[10]的测定方法;淀粉酶活性参照陈毓荃[11]主编的《生物化学实验方法和技术》中介绍的淀粉酶活性的测定方法。

1.6 数据分析

数据先用 Excel 2003 进行整理,再用 SPSS 21.0 处理、分析。单因素筛选试验数据进行单因素方差分析并结合 Duncan 氏法进行多重比较;正交试验数据进行极差分析及方差分析。所有试验结果均用平均值±标准差表示,显著水平为 $P<0.05$。

2 结果与分析

2.1 最适单菌种发酵的筛选

12 种单菌种发酵甘薯渣后,粗蛋白质含量、CMCase 活性、还原糖含量见表 1。从表中可以看出,黑曲霉 2 发酵甘薯渣后其粗蛋白质含量从 5.64%提高到 7.89%,提高了 44.7%,显著高于其他菌种发酵组($P<0.05$);黑曲霉 2 发酵组所产的 CMCase 活性为 2.61 U/g,显著高于其他单菌发酵组($P<0.05$)。综合考虑粗蛋白质含量、CMCase 活性和还原糖含量等指标,确定黑曲霉 2 为曲霉组中优势菌种,同时也是 12 种菌株中最优发酵菌种,将其定为本试验主发酵菌种,记作 A。

木霉组中里氏木霉和绿色木霉发酵甘薯渣后,其粗蛋白质含量无显著差异($P>0.05$),但 CMCase 活性高于绿色木霉发酵组($P<0.05$),因此选择里氏木霉作为木霉组中优势菌种,记作 B。芽孢杆菌组中,枯草芽孢杆菌 1 组粗蛋白质含量显著高于其他 3 个组($P<0.05$);枯草芽孢杆菌 1 和 3 发酵后 CMCase 活性相当,显著高于其余 2 个芽孢杆菌发酵组($P<0.05$),因此确定枯草芽孢杆

菌 1 作为芽孢杆菌中的优势菌种,记作 C。酵母发酵组中,酿酒酵母 1 发酵后的粗蛋白质含量显著高于其他 2 个发酵组($P<0.05$)。选择酿酒酵母 1 作为酵母菌中的优势菌种,记作 D。

表 1　甘薯渣固态发酵最适单菌株筛选(风干基础)

Table 1　The screening of single microbial strain for sweet potato residue fermentation (air-dry basis)

菌种 Strains	来源 Source	粗蛋白质 CP/%	羧甲基纤维素酶 CMCase/(U/g)	还原糖 Reducing sugar/%
黑曲霉 1 *Aspergillus niger* 1	本实验室保藏	7.40±0.11^{f}	1.38±0.03^{f}	4.41±0.23^{g}
黑曲霉 2 *Aspergillus niger* 2	本实验室保藏	7.89±0.07^{g}	2.61±0.04^{h}	3.95±0.17^{f}
米曲霉 *Aspergillus oryzae*	山西农业大学	6.65±0.09^{e}	2.36±0.02^{g}	0.88±0.13^{c}
里氏木霉 *Trichoderma reese*	本实验室保藏	6.56±0.10^{de}	1.29±0.01^{e}	1.26±0.33^{d}
绿色木霉 *Trichoderma viride*	本实验室保藏	6.66±0.10^{e}	1.18±0.02^{d}	3.82±0.18^{e}
枯草芽孢杆菌 1 *Bacillus subtilis* 1	四川农业大学资源环境学院	6.50±0.08^{d}	1.01±0.02^{c}	0.97±0.41^{c}
枯草芽孢杆菌 2 *Bacillus subtilis* 2	四川省水产学院	6.09±0.06^{c}	0.90±0.01^{b}	0.75±0.42^{b}
枯草芽孢杆菌 3 *Bacillus subtilis* 3	本实验室保藏	5.79±0.03^{b}	1.02±0.06^{c}	0.60±0.21^{a}
饲料芽孢杆菌 Feed *Bacillus subtilis*	四川省水产学院	5.53±0.14^{ab}	0.80±0.02^{a}	0.72±0.32^{b}
酿酒酵母 1 *Saccharomyces cerevisiae* 1	山西农业大学	5.96±0.07^{c}		
酿酒酵母 2 *Saccharomyces cerevisiae* 2	本实验室保藏	5.60±0.09^{a}		
产朊假丝酵母 *Candida utili*	四川省水产学院	5.60±0.05^{a}		
对照(未发酵) Control (unfemented)		5.64±0.05^{ab}		

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),相同字母表示差异不显著($P>0.05$)。表 2 同。

In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as Table 2.

2.2　最优复配菌种组合筛选

以黑曲霉 2 为主发酵菌株(A),与 2.1 试验筛选出的优势菌株里氏木霉(B)、枯草芽孢杆菌 1(C)和酿酒酵母 1(D)分别进行 1∶1、1∶1∶1 和 1∶1∶1∶1的复配,考察不同混菌组合对甘薯渣发酵效果的影响,结果见表 2。

从表 2 可以看出,混菌组合发酵与单菌发酵相比,均提高发酵后原料粗蛋白质含量。粗蛋白质含量最高的是 ABCD 组合,达到 8.39%,其次是 ABC 组合,2 种组合发酵甘薯渣的粗蛋白质含量均显著高于其他发酵组合($P<0.05$)。同时 ABCD 组合 CMCase 活性显著高于其他菌种组合($P<0.05$),达到 3.04 U。还原糖含量除 ACD 组合最低外($P<0.05$),其余的组合之间差异不显著($P>0.05$)。综合分析,ABCD 组合发酵对甘薯渣营养价值改善最高,确定该组合为最优菌种组合。

2.3　正交试验结果

采用 $L_{16}(4^5)$ 的正交试验设计,考察发酵温度、发酵时间、接种量、料水比、菌种复配比例对甘薯渣发酵的影响。各因素水平为发酵温度(32、34、36、38 ℃)、发酵时间(3、3.5、4、4.5 d)、接种量(2.5、5、10、20×10^5 CFU/g),料水比(1∶1.2、1∶1.3、1∶1.4、1∶1.5),菌种复配比例(黑曲霉 2∶里氏木霉∶枯草芽孢杆菌 1∶酿酒酵母 1=1∶1∶1∶1、1∶1∶2∶1、1∶2∶1∶1、1∶2∶2∶1),分别用 A、B、C、D、E 表示。由极差分析(表 3)粗蛋白质 R 值可以看出,RD>RC>RE>RA>RB,即接种量对发酵后粗蛋白质含量影响最大,其次是料水比,然后是菌种复配比例,再是温度,最后是发酵时间。由粗蛋白质 K 值可得最佳发酵组合 $A_4B_2C_1D_3E_2$。从 CMCase R 值可以看出,RA>RB>RC>RD>RE,即 5 个参数对 CMCase活的影响程度有大到小依次是发酵温度、发酵时间、料水比、接种量、菌种复配比例。由 CMCase K 值可得最佳组合为 $A_4B_4C_1D_3E_1$。综合粗蛋白质和 CMCase R 值和 K 值,得出最适发酵参数组合是 $A_4B_4C_1D_3E_2$,即发酵温度 38 ℃,培养时间 4.5 d,料水比 1∶1.2,接种量 1×10^6 个/g,接种比例为 1∶1∶2∶1。

表 2 不同混菌组合发酵对甘薯渣粗蛋白质、CMCase 活性和还原糖含量的影响(风干基础)

Table 2 Effects of different mixed microbe strain fermentation on the crude protein content, CMCase activity and reducing sugar content of sweet potato residue (air-dry basis)

菌种 Strains	粗蛋白质 Crude protein/%	羧甲基纤维素酶 CMCase/(U/g)	还原糖 Reducing sugar/%
A	7.77±0.06[a]	2.69±0.03[b]	7.46±0.72[b]
AB	7.86±0.03[ab]	2.83±0.05[c]	7.53±0.48[b]
AC	8.17±0.09[d]	2.75±0.02[bc]	7.56±0.59[b]
AD	7.97±0.08[bc]	2.82±0.09[c]	7.89±0.39[b]
ABC	8.32±0.08[e]	2.70±0.04[b]	7.67±0.37[b]
ABD	7.93±0.10[bc]	2.52±0.04[a]	7.78±0.45[b]
ACD	8.06±0.07[cd]	2.72±0.09[b]	5.86±0.28[a]
ABCD	8.39±0.07[e]	3.04±0.05[d]	7.37±0.30[b]

表 3 正交试验结果的极差分析表

Table 3 The range analysis of the orthogonal test result

试验号 Experiment No.	发酵参数 Fermentation parameters					粗蛋白质 CP/%	羧甲基纤维素酶 CMCase/(U/g)
	A	B	C	D	E		
1	32	3	1∶1.2	2.5	1∶1∶1∶1	7.72±0.03	3.14±0.02
2	32	3.5	1∶1.3	5	1∶1∶2∶1	8.93±0.19	2.35±0.01
3	32	4	1∶1.4	10	1∶2∶1∶1	8.18±0.14	2.62±0.03
4	32	4.5	1∶1.5	20	1∶2∶2∶1	8.19±0.14	2.85±0.02
5	34	3	1∶1.3	10	1∶2∶2∶1	8.15±0.23	3.33±0.06
6	34	3.5	1∶1.2	20	1∶2∶1∶1	8.85±0.19	3.47±0.03
7	34	4	1∶1.5	2.5	1∶1∶2∶1	8.28±0.13	2.95±0.07
8	34	4.5	1∶1.4	5	1∶1∶1∶1	8.10±0.04	3.31±0.05
9	36	3	1∶1.4	20	1∶1∶2∶1	7.45±0.11	3.24±0.05
10	36	3.5	1∶1.5	10	1∶1∶1∶1	8.21±0.14	3.76±0.18
11	36	4	1∶1.2	5	1∶2∶2∶1	8.69±0.05	3.16±0.05
12	36	4.5	1∶1.3	2.5	1∶2∶1∶1	5.56±0.15	3.46±0.02
13	38	3	1∶1.5	5	1∶2∶1∶1	7.82±0.07	3.34±0.02
14	38	3.5	1∶1.4	2.5	1∶2∶2∶1	8.09±0.02	3.40±0.03
15	38	4	1∶1.3	20	1∶1∶1∶1	7.97±0.12	2.80±0.07
16	38	4.5	1∶1.2	10	1∶1∶2∶1	10.37±0.16	4.12±0.05
粗蛋白质 CP							
K_1	8.26	7.79	8.91	7.41	8.01		
K_2	8.35	8.52	7.65	8.39	8.76		
K_3	7.48	8.28	7.96	8.73	7.60		
K_4	8.56	8.06	8.13	8.12	8.28		
R	1.09	0.74	1.26	1.32	1.16		
羧甲基纤维素酶 CMCase							
K_1	2.74	3.26	3.47	3.24	3.25		
K_2	2.66	3.25	2.99	3.04	3.17		
K_3	3.41	2.88	3.14	3.46	3.22		
K_4	3.42	3.44	3.22	3.09	3.19		
R	0.68	0.55	0.49	0.42	0.09		

2.4　最优条件发酵结果

由表 4 可知,以最优条件发酵甘薯渣后,CMCase、FPA、β-葡萄糖苷酶和淀粉酶活性分别为 4.26、3.29、3.75 和 5.15 U/g DM。与对照组相比,以干物质为基础,粗蛋白质含量从 6.37%提高到 9.75%,提高了 53%;粗脂肪含量从 2.71%提高到 4.92%,提高了 82%;粗灰分含量从 4.47%提高到 6.56%,发酵后粗纤维含量没有下降,反而有所提升,从 9.64%提高到 13.08%。

表 4　混菌发酵对甘薯渣营养成分变化的影响(干物质基础)

Table 4　Effect of mixed microbe strain fermentation on nutrients composition of sweet potato residue(DM basis)

营养成分 Nutrients	对照组 Control group	试验组 Experimental group
粗蛋白质 CP/%	6.37±0.01[a]	9.75±0.09[b]
粗脂肪 EE/%	2.71±0.04[a]	4.92±0.05[b]
粗纤维 CF/%	9.64±0.09[a]	13.08±0.82[b]
无氮浸出物 NFE/%	70.36±0.16[b]	61.04±1.46[a]
粗灰分 Ash/%	4.47±0.03[a]	6.56±0.43[b]
还原糖 Reducing sugar/%	4.42±0.32[a]	8.22±0.25[b]
羧甲基纤维素酶 CMCase/(U/g)		4.26±0.13
滤纸酶 FPA/(U/g)		3.29±0.31
β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase/(U/g)		3.75±0.31
淀粉酶 Amylase/(U/g)		5.15±0.14

3　讨　论

不同的微生物产酶的种类和产酶能力不同,需要根据发酵目的不同来选择不同的微生物进行发酵[12]。本研究一共对 4 类共 12 种菌株进行发酵筛选,结果发现曲霉中的黑曲霉 2,木霉中的里氏木霉,芽孢杆菌枯草芽孢杆菌 1,酵母中的酿酒酵母 1 效果较好。其中黑曲霉能产生淀粉酶、纤维素酶、蛋白酶、葡萄糖酶、植酸酶、半乳甘露聚糖酶等酶类,因此在发酵中得到广泛的应用,但黑曲霉因变异性大,不同的黑曲霉菌株,发酵效果不一样。木霉也广泛用于微生物发酵,资料报道里氏木霉能分泌大量的纤维素酶和木聚糖酶[13-14]。芽孢杆菌作为益生菌,可促进动物对饲料的消化、吸收、利用,从而提高饲料的转化率,并在防病促生长中起到非常重要作用[15-16]。酵母属于益生菌,在发酵中应用广泛,发酵过程中酵母自身的繁殖生长会产生大量的高营养价值菌体蛋白[17]。

以筛选出的黑曲霉 2 为主发酵菌,与筛选出的其他 3 种菌种进行不同复配,发现四菌组合发酵效果优于双菌和三菌组合,发酵后甘薯渣粗蛋白质含量和 CMCase 酶活均高于其他组合(表 2)。有研究报道,里氏木霉与黑曲霉混合发酵可弥补里氏木霉所产的 β-葡萄糖苷酶活性较低的不足,提高酶解效率,让基质充分发酵[18-20]。Ahamed 等[21]对里氏木霉 RUT-C30 与黑曲霉 LMA 进行混合发酵,发现 FPA 可达到 7.1 U/mL,与单菌发酵的 3.4 U/mL 相比提高了 108.8%。本研究发现 4 菌混合发酵,效果优于其他发酵组合,可能原因在于多菌组合发挥了各个菌种相互之间的协同效应。

微生物接种量、发酵时间、发酵温度、水分含量等因素也对发酵效果有着重要的影响[12,22]。本研究利用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验设计考察了 4 菌混合发酵的最优发酵参数,试验获得的混菌发酵最适参数为:培养温度 38 ℃,培养时间 4.5 d,料水比 1∶1.3,接种量 1×10^6 个/g,接种比例 1∶1∶2∶1。傅娅梅[23]对复合蛋白质饲料适宜的发酵参数进行探讨,发现最适参数为:发酵时间 2.5 d,加水量 65%,接种量 10%,枯草芽孢杆菌:产朊假丝酵母:植物乳酸杆菌为 1∶1∶1;胡瑞等[24]用复合益生菌发酵豆粕,发现在复合益生菌(酿酒酵母:米曲霉:枯草芽孢杆菌=5∶1∶2)总添加量 0.5%,料水比1∶0.4,发酵 48 h 小效果最佳。

陈松等[25]利用产朊假丝酵母、白地霉、枯草芽孢杆菌和黑曲霉混菌发酵苹果渣,发酵后基质粗蛋白质含量较发酵前提高了 108%。王叔军等[26]向甘薯渣中添加少量的麸皮和尿素作为氮源,用微生物进行混菌发酵后,粗蛋白质含量提高到

42.4%。赵启美等[27]采用固液结合的方法,发酵甘薯渣后,粗蛋白质含量提高了 58.4%;粗纤维含量由 25.3%下降到 14.2%。本研究中,发酵后产物中粗蛋白质、粗脂肪和灰分含量显著提高。但发酵后粗纤维含量没有下降,反而有所上升,可能原因在于甘薯渣在提取淀粉过程中,因淀粉提取程度不同,造成甘薯渣粗纤维含量差异很大,本研究中所用原料粗纤维只有 8.8%,低于资料报道的 27%的水平[28]。因此发酵时微生物优先利用淀粉生长,这也是本研究中甘薯渣发酵后与汤小鹏等[10]发酵木薯渣相比,本试验中产物中淀粉酶活性高,而 CMCase 等纤维素降解酶活性相对较低的原因。多菌混菌固态发酵,可有效提高产物中 FPA、CMCase 和淀粉酶等活性[29],本研究采用 4 种不同菌株混菌发酵,产物中检测出了 FPA、CMCase、β-葡萄糖苷酶和淀粉酶等活性。微生物在发酵过程中,利用发酵底物提供的氮源和碳源进行繁殖、生长,消耗部分底物,导致底物干物质含量降低,从而使粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分含量相对提高,但是通过微生物发酵,一方面微生物可将甘薯渣中低质量蛋白质转化为高质量菌体蛋白,提高蛋白质质量;另一方面固态发酵后产生的各种酶,以及微生物发酵过程中累积大量营养丰富的菌体蛋白及许多微生物代谢产物,间接提高了发酵产物营养价值,可望使甘薯渣营养价值得到进一步改善。此外,混菌发酵时有益微生物的竞争性生长,可望有效抑制导致甘薯渣腐烂变质的有害微生物如黑根霉(*Rhizopus stolonifer*)软腐菌生长,提高甘薯渣的存储价值。

4 结 论

① 通过 $L_{16}(4^5)$ 正交试验得到多菌混合发酵甘薯渣的最优条件为:发酵温度 38 ℃,发酵时间 4.5 d,料水比 1∶1.3,接种量 1×10^6 个/g,接种比例为黑曲霉 2∶里氏木霉∶枯草芽孢杆菌 1∶酿酒酵母 1=1∶1∶2∶1。

② 以最优条件混菌发酵甘薯渣后,发酵产物中可检测到 CMCase、FPA、β-葡萄糖苷酶和淀粉酶等酶活性。与对照相比,以干物质为基础,发酵后显著提高了产物中粗蛋白质、粗脂肪和还原糖含量。发酵后粗纤维含量没有下降,反而有所上升。

参考文献:

[1] 邓学良,周文化,付希.甘薯食品产业发展概况与前景分析[J].粮食与饲料工业,2009(5):15-16.

[2] WANG Q J,CHEN S W,ZHANG J B,et al.Co-producing lipopeptides and poly-γ-glutamic acid by solid-state fermentation of *Bacillus subtilis* using soybean and sweet potato residues and its biocontrol and fertilizer synergistic effects[J].Bioresource Technology,2008,99(8):3318-3323.

[3] 李顺如,陈泉水,郑举功.薯渣的开发和利用[J].环境科学与技术,2002,25(1):25-26,45.

[4] JANG H D,LIN Y Y,YANG S S.Polyunsaturated fatty acid production with *Mortierella alpina* by solid substrate fermentation[J].Botanical Bulletin of Academia Sinica,2000,41:41-48.

[5] YANG S S.Protein enrichment of sweet potato residue with amylolytic yeasts by solid state fermentation[J].Biotechnology and Bioengineering,1988,32(7):886-890.

[6] 黄晓钰,刘邻渭.食品化学综合实验[M].北京:中国农业大学出版社,2002.

[7] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].2 版.北京:中国农业大学出版社,2003.

[8] GB/T 23881—2009,饲用纤维素酶活性的测定-滤纸法[S].北京:中国标准出版社,2009.

[9] 何凤琴,黄婷,钱昉,等.滤纸法测定饲用纤维素酶酶活的研究[J].中国饲料,2009(13):37-41.

[10] 汤小朋,赵华,汤加勇,等.黑曲霉固态发酵改善木薯渣品质的研究[J].动物营养学报,2014,26(7):2026-2034.

[11] 陈毓荃.生物化学实验方法和技术[M].北京:科学出版社,2002.

[12] JAMAL P,TIJANI R I D,ALAM M Z,et al.Effect of operational parameters on solid state fermentation of cassava peel to an enriched animal feed[J].Journal of Applied Science,2012,12(11):1166-1170.

[13] ARO N,ILMÉN M,SALOHEIMO A,et al.ACEI of *Trichoderma reesei* is a repressor of cellulase and xylanase expression[J].Applied and Environmental Microbiology,2003,69(1):56-65.

[14] 张晓,李景富,王傲雪.里氏木霉产纤维素酶条件的优化[J].东北农业大学学报,2008,39(7):29-32.

[15] 杨汉博,潘康成.不同剂量益生芽孢杆菌对肉鸡免疫功能的影响[J].兽药与饲料添加剂,2003,8(4):8-10.

[16] 张爱武,薛军.枯草芽孢杆菌在动物生产中的应用效

果[J].中国畜牧兽医,2011,38(4):234-238.

[17] 杨旭,蔡国林,曹钰,等.固态发酵提高豆粕蛋白含量的条件优化研究[J].中国酿造,2008(5):17-21.

[18] SUURNÄKKI A,TENKANEN M,SIIKA-AHO M,et al.Trichoderm a reesei cellulases and their core domains in the hydrolysis and modification of chemical pulp[J].Cellulose,2000,7(2):189-209.

[19] MUTHUVELAYUDHAM R,VIRUTHAGIRI T.Optimization and modeling of cellulase protein from *Trichoderma reesei* Rut C30 using mixed substrate[J].African Journal of Biotechnology,2007,6(1):41-46.

[20] KUMAR R,SINGH R P.Semi-solid-state fermentation of *Eicchornia crassipes* biomass as LIGNOCELLULOSIC biopolymer for cellulase and β-glucosidase production by cocultivation of *Aspergillus niger* RK3 and *Trichoderma reesei* MTCC164[J].Applied Biochemistry and Biotechnology,2001,96(1/2/3):71-82.

[21] AHAMED A,VERMETTE P.Enhanced enzyme production from mixed cultures of *Trichoderma reesei* RUT-C30 and *Aspergillus niger* LMA grown as fed batch in a stirred tank bioreactor[J].Biochemical Engineering Journal,2008,42(1):41-46.

[22] TIJANI I D R,JAMAL P,ALAM M Z,et al.Optimization of cassava peel medium to an enriched animal feed by the white rot fungi *Panus tigrinus* M609RQY[J].International Food Research Journal,2012,19(2):427-432.

[23] 傅娅梅.复合蛋白饲料固态发酵工艺参数及其营养价值评定研究[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2008.

[24] 胡瑞,陈艳,王之盛,等.复合益生菌发酵豆粕生产工艺参数的优化及酶菌联合发酵对豆粕品质的影响[J].动物营养学报,2013,25(8):1896-1903.

[25] 陈松,丁立孝,张莉,等.发酵苹果渣生产蛋白饲料的混合菌种的筛选[J].食品与发酵工业,2008,34(2):94-96.

[26] 王淑军,吕明生,王永坤.混菌发酵提高甘薯渣饲用价值的研究[J].食品与发酵工业,2001,28(6):40-44.

[27] 赵启美,何佳.甘薯渣蕈菌发酵饲料的研究[J].粮食与饲料工业,2002(1):24-25.

[28] 韩俊娟,木泰华.10 种甘薯渣及其筛分制备的膳食纤维主要成分分析[J].中国粮油学报,2009,24(1):40-43.

[29] 司美茹,薛泉宏,蔡艳.混合发酵对纤维素酶和淀粉酶活性的影响[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2002,30(5):69-73.

Nutritional Improvement of Sweet Potato Residue by Solid-State Fermentation with Mixed Microbe Strains

ZHAO Hua[1] WANG Xuetao[1*] TANG Jiayong[1] TANG Xiaopeng[1] JIA Gang[1]
LIU Guangmang[1] CHEN Xiaolin[1] LONG Dingbiao[2] WANG Kangning[1]
(1. *Animal Nutrition Institute*, *Sichuan Agricultural University*, *Chengdu* 611130, *China*;
2. *Chongqing Academy of Animal Science*, *Chongqing* 402460, *China*)

Abstract: In this study, a solid-state fermentation (SSF) using mixed microbe strains was conducted to improve the nutritional quality of sweet potato residue and the optimal fermentation parameters was investigated. A single factor experiment design was adopted to investigate the effects of 4 species, 12 strains of microbe fermentation on nutritional improvement of sweet potato residue. Four single microbial strains from each species were selected and the strain with best nutritional improvement was selected as the main strain to formulation with other three strains screened for SSF. Orthogonal experiment design was further used to optimize the fermentation parameters such as time, temperature, moisture, inoculation size and strain formulation ratio on nutritional quality improvement of sweet potato residue. The results showed as following: 1) inoculated 1×10^6 germ per gram fermentation materials with *Aspergillus Niger* 2:Trichoderma reese:*Bacillus subtilis* 1:*Saccharomyces cerevisiae* 1 at the ratio of 1∶1∶2∶1, controlled the ratio of substrate vs. water ratio to 1∶1.3 and fermented at 38 ℃ for 4.5 days get a best nutritional improvement of sweet potato residue. 2) Fermented sweet potato residue under the optimized condition described above and calculated base on dry matter, crude protein was increased from 6.37% to 9.75%; crude fat was increased from 2.71% to 4.92%; the reducing sugar increased from 4.22% to 8.22%; Moreover, after fermentation the enzyme activity of the carboxymethyl cellulose, filter paper, β-glucosidase and amylase reached to 4.26, 3.29, 3.75 and 5.15 U per gram dry matter, respectively. Our results suggest that the SSF with mixed microbe strains offers an effective alternative to improving the quality of unconventional feed sources such as sweet potato residue. [***Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(4):1191-1198**]

Key words: mixed microbe strains; solid-state fermentation; sweet potato residue; nutritional value

Author, ZHAO Hua, associate professor, E-mail: zhua666@126.com
* Contributed equally

(责任编辑 武海龙)