

膨化法与微生物发酵处理法对豆粕营养价值的影响

魏凤仙¹, 高方¹, 李绍钰^{1*}, 盛卫东¹, 陈如水², 付瑞珍², 黄元林², 郑新社¹

(1. 河南省农业科学院 畜牧兽医研究所, 河南 郑州 450002; 2. 河南聚丰饲料科技有限公司, 河南 郑州 450002)

摘要: 为研究不同处理方法对豆粕营养价值的影响及抗营养因子脱除效果, 选择膨化法和微生物发酵法处理豆粕, 并测定所得样品的常规营养成分、氨基酸、抗营养因子、霉菌毒素、挥发性盐基氮含量及微生物菌群数量等指标。结果显示: 与普通豆粕相比, 膨化处理的豆粕中营养成分含量有降低的趋势, 蛋白质溶解度和抗营养因子胰蛋白酶抑制因子含量、凝集素含量、脲酶活性分别降低 15.27%、37.95%、93.98%、44.0%; 微生物发酵处理后, 豆粕中的营养成分含量有升高的趋势, 粗蛋白含量提高 7.61%, 赖氨酸、氨基酸总和分别升高 17.75%、7.24%, 小肽含量升高 295.69%, 蛋白质溶解度、粗脂肪含量分别下降 23.18%、42.86%, 消除抗营养因子效果显著, 胰蛋白酶抑制因子和凝集素均未检出, 脲酶活性仅为 0.01 U/g, 黄曲霉毒素 B1 含量降低 46.15%, 且发酵豆粕产品中富含有益菌, 符合行业卫生标准。研究表明, 发酵处理法比膨化法更适宜豆粕抗营养因子脱除。

关键词: 豆粕; 膨化; 微生物发酵; 营养价值

中图分类号: S816.42 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2014)04-0123-05

Effects of Extrusion and Fermentation Treatment Methods on Nutritional Value of Soybean Meal

WEI Feng-xian¹, GAO Fang¹, LI Shao-yu^{1*}, SHENG Wei-dong¹, CHEN Ru-shui²,
FU Rui-zhen², HUANG Yuan-lin², ZHENG Xin-she¹

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. Henan Jufeng Animal Feed Technology Co., Ltd, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To study the effect of different treatment methods on the nutritional value and the removing of anti nutritional factor in soybean meal, extrusion method and fermentation method were selected to treat soybean meal. The general nutrition composition, amino acid content, anti nutritional factors and mycotoxin content, volatile basic nitrogen content and microbial populations of soybean meal treated by extrusion or by fermentation were analyzed. The results showed that the extruded soybean meal had a reducing trend of nutrient content compared with the soybean meal without treatment. The protein solubility, trypsin inhibitor, lectin and urease activity were about 15.27%, 37.95%, 93.98% and 44.0% lower, respectively, than soybean meal without treatment. The fermented soybean meal had a increasing trend of nutrient content compared with the soybean meal without treatment. The crude protein, lysine, total amino acids and small peptide were about 7.61%, 17.75%, 7.24% and 295.69% higher, and the solubility of protein and crude fat were about 23.18% and 42.86% lower, respectively, than soybean meal

收稿日期: 2013-11-16

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD39B0402-05); 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-42); 2014 年度河南省农业科学院科研发展专项资金项目

作者简介: 魏凤仙(1973-), 女, 河南南阳人, 副研究员, 博士, 主要从事动物营养与环境调控方向的研究工作。

E-mail: wei.fx@163.com

* 通讯作者: 李绍钰(1965-), 男, 湖北麻城人, 研究员, 博士, 主要从事动物营养与环境调控方向的研究工作。

E-mail: lsy9617@aliyun.com

without treatment. Moreover, trypsin inhibitor and lectin were not detected, and the urease activity was only 0.01 U/g in fermented soybean meal. The aflatoxin B1 concentration in fermented soybean meal was 46.15% lower than that in the soybean meal without treatment. The fermented soybean meal was also rich in bacteria. In conclusion, fermentation method is a more ideal method for the removing of anti nutritional factor in soybean meal than extrusion method.

Key words: soybean meal; extrusion; fermentation; nutritional value

豆粕是畜牧养殖业中应用最为广泛的一种优质植物性蛋白源,但是豆粕中存在胰蛋白酶抑制因子、凝集素及大豆抗原等多种抗营养因子,不仅降低了动物对豆粕中主要营养物质的利用,而且在一定程度上影响动物的健康。目前,国内外常用的植物蛋白原料抗营养因子消除方法很多。如谯仕彦等^[1]的研究结果表明,100~140℃膨化加工可使大豆胰蛋白酶抑制因子的活性降低 74.8%~88.6%,随温度升高,胰蛋白酶抑制因子灭活程度加强。Hirabayashi 等^[2]使用宇佐美曲霉发酵大豆粕,发酵后豆粕中的植酸可全部被降解。孙常灿等^[3]采用乳酸菌、枯草芽孢杆菌发酵大豆粉,能有效消除大豆中胰蛋白酶抑制剂的活性。Feng 等^[4]采用米曲霉 3 042 发酵豆粕,可完全消除豆粕胰蛋白酶抑制因子。此外, Hamscher 等^[5]发现,用 10 Gy 的 γ 射线照射大豆种子时,其中的大豆胰蛋白酶抑制因子活力降为原来的 25%。侯水生^[6]用偏重亚硫酸钠处理生豆粕,可使胰蛋白酶抑制蛋白活性降低 44.5%。

上述研究多集中在对豆粕中个别抗营养因子的脱除效果上,缺少对豆粕主要抗营养因子和营养成分含量及卫生指标的全面评判。膨化法和微生物发酵法是目前消除豆粕中抗营养因子的常用方法。为对这 2 种处理方法进行全面的评判,检测了豆粕、膨化豆粕及发酵豆粕产品中的营养成分和抗营养因子含量,以期选出豆粕最佳前处理方法,提高蛋白原料利用效率和营养价值,为生产提供理论依据和参考。

1 材料和方法

1.1 仪器设备

电子分析天平购自 Mettler MS304S 公司,全自动凯氏定氮仪、全自动纤维分析系统、索氏脂肪浸提系统购自 FOSS 公司,马福炉购自郑州良源公司,全自动氨基酸分析仪购自大连依利特公司,酶标仪购自美国 Molecular Devices 公司,高效液相分析仪购自戴安公司,紫外分光光度计购自日立公司。

1.2 样品处理

普通豆粕由河南聚丰饲料科技有限公司购进。膨化豆粕样品为普通豆粕经 120℃的膨化温

度处理的产品。微生物发酵豆粕样品为普通豆粕采用啤酒酵母菌、德氏乳酸杆菌及凝结芽孢杆菌菌种进行发酵处理的产品。按照国家标准(GB/T 14699.1-2005)分别采集普通豆粕、膨化豆粕和发酵豆粕产品样品,所有样品清除杂质后粉碎,过 0.63 μm 分析筛,处理后用四分法制备成待分析样品,每个样品 3 份。

1.3 测定项目

测试饲料常规营养成分,粗蛋白、粗纤维、粗灰分、水分、脂肪等各指标分别参照相应国标方法进行检测,各氨基酸含量的测定参照 GB/T 18246-2000 方法。蛋白质溶解度采用 DB13/T 812-2006 方法,豆粕中抗营养因子脲酶活性依据 GB/T 8622-2006 测定,胰蛋白酶抑制因子采用单克隆抗体酶联免疫吸附测定法,凝集素测定主要参照戴大章《饲料中植物凝集素的快速检测方法——血凝法》^[7]进行,黄曲霉毒素 B1 的测定依据 GB/T 17480-2008,挥发性盐基氮参照 GB/T 5009.44-2003 测定,细菌数量采用平板菌落计数法。

1.4 数据统计与分析

样品检测数据利用 Excel 处理,采用 SPSS 13.0 程序的 one-way ANOVA 进行分析,结果以平均值表示,以 $P \leq 0.05$ 为显著水平;细菌数量统计后,用 1 g 样品中细菌个数的常用对数($\lg\text{cfu/g}$)表示。

2 结果与分析

2.1 膨化处理和微生物发酵处理对豆粕常规营养成分、氨基酸含量的影响

提高粗蛋白及降低粗纤维含量有利于提高蛋白原料的饲用价值。由表 1 可以看出,与普通豆粕相比,膨化豆粕中的粗蛋白含量略有减少,且主要氨基酸含量下降,其中赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸及氨基酸总和分别下降了 1.71%、6.25%、3.11%、3.40%,粗纤维、粗脂肪和水分的含量下降($P > 0.05$),小于 1 000 Da 小肽含量有升高的趋势($P > 0.05$);发酵豆粕中粗蛋白含量显著提高 7.61%,赖氨酸及氨基酸总和也分别升高了 17.75%和 7.24%,粗脂肪含量显著下降,小于 1 000 Da 小肽含量从 5.10%升高到 20.18%,差异极显著。

表 1 膨化处理和微生物发酵处理对豆粕常规营养成分、氨基酸含量的影响

样品名称	粗蛋白	粗纤维	粗脂肪	水分	粗灰分	赖氨酸	蛋氨酸	苏氨酸	蛋+胱氨酸	氨基酸总和	小肽 (≤ 1000 Da)
豆粕	47.03 ^{aA}	6.30 ^{aA}	2.1 ^{aA}	11.50 ^{aA}	7.6 ^{aA}	2.93 ^{aA}	0.48 ^{aA}	1.93 ^{aA}	1.09 ^{aA}	46.12 ^{aA}	5.10 ^{aA}
膨化豆粕	46.56 ^{aA}	5.10 ^{aA}	1.9 ^{aA}	10.02 ^{aA}	7.8 ^{aA}	2.88 ^{aA}	0.45 ^{aA}	1.87 ^{aA}	0.97 ^{aA}	44.55 ^{aA}	6.34 ^{aA}
发酵豆粕	50.61 ^{bA}	5.00 ^{aA}	1.2 ^{bA}	8.00 ^{bA}	9.5 ^{aA}	3.45 ^{bA}	0.46 ^{aA}	1.89 ^{aA}	1.29 ^{aA}	49.46 ^{aA}	20.18 ^{bB}

注:同列标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),标有不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),下同。

2.2 膨化处理和微生物发酵处理对豆粕蛋白质溶解度、抗营养因子及黄曲霉毒素 B1 的影响

蛋白质溶解度是指蛋白质在一定量的氢氧化钾溶液中溶解的数量占粗蛋白总量的百分含量,用来评价豆粕的加热程度。降低豆类蛋白原料中的抗营养因子含量可以提高原料的饲用效率。由表 2 可以看出,与普通豆粕相比,膨化豆粕、发酵豆粕的蛋白

质溶解度分别降低 15.27% ($P < 0.05$)、23.18% ($P < 0.01$)。与普通豆粕相比,膨化豆粕中胰蛋白酶抑制因子含量、凝集素含量及脲酶活性分别降低 37.95%、93.98%、44.0% ($P < 0.05$);微生物发酵处理对抗营养因子胰蛋白酶抑制因子和凝集素的脱除率均为 100%,脲酶活性仅为 0.01 U/g ($P < 0.01$),黄曲霉毒素 B1 含量降低 46.15% ($P < 0.05$)。

表 2 膨化处理和微生物发酵处理对豆粕蛋白质溶解度、抗营养因子及黄曲霉毒素 B1 的影响

样品名称	蛋白质溶解度/%	胰蛋白酶抑制因子/ (mg/g)	凝集素/U	脲酶活性(以氨 态氮计)/(U/g)	黄曲霉毒素 B1/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
豆粕	90.13 ^{aA}	32.23 ^{aA}	19.089 ^{aA}	0.50 ^{aA}	13 ^{aA}
膨化豆粕	76.37 ^{bA}	20.00 ^{bA}	1.150 ^{bB}	0.28 ^{bA}	12 ^{aA}
发酵豆粕	69.24 ^{bB}	未检出	未检出	0.01 ^{bB}	7 ^{bA}

2.3 微生物发酵豆粕中挥发性盐基氮含量及微生物菌群数量

由表 3 可以看出,豆粕经啤酒酵母菌、凝结芽孢杆菌以及德氏乳酸杆菌发酵处理后,得到的发

酵豆粕产品含有丰富的有益菌如酵母菌、乳酸杆菌、芽孢杆菌及活菌数。发酵豆粕产品中挥发性盐基氮含量为 0.882 5 mg/g,低于行业标准 ≤ 1 mg/g 卫生指标。

表 3 微生物发酵处理豆粕中挥发性盐基氮含量及微生物菌群数量

样品名称	挥发性盐基氮/ (mg/g)	酵母菌/ (lgcfu/g)	乳酸杆菌/ (lgcfu/g)	芽孢杆菌/ (lgcfu/g)	活菌数/ (lgcfu/g)
发酵豆粕	0.882 5	2.5×10^7	1.6×10^8	2.3×10^8	4.2×10^8

3 结论与讨论

3.1 不同处理对豆粕常规营养成分和氨基酸含量的影响

温度是蛋白质发生变性的重要参数之一,当温度升高超过临界温度时,蛋白质由折叠结构逐渐向展开结构转变,分子间的氢键及二硫键部分断裂,从而导致蛋白质发生不可逆变性,一部分蛋白质裂解为多肽和氨基酸^[8]。因此,豆粕经膨化处理,蛋白质含量略有下降,是由于物料在进行膨化加工时,其中的蛋白质在高温及强的压力和剪切力下发生了变性作用,导致蛋白质含量下降,肽含量升高。这与本试验结果一致。但膨化温度过高,过度变性又会导致蛋白亚基之间的聚集,不利于酶的作用,使肽生成量下降。同时,在膨化过程中赖氨酸与一些还原糖

或其他羰基化合物易发生美拉德反应,使赖氨酸含量降低。一般来说,物料中赖氨酸的破坏程度与膨化加工条件关系密切,如挤压膨化时,温度越高,膨化条件越剧烈,物料中的水分含量越低,赖氨酸的损失越大,使得蛋白质的生物学效价也越低。因此,豆粕经膨化后蛋白质含量下降而小肽含量升高。

本试验结果显示,膨化后豆粕中的粗纤维和粗脂肪含量降低。金希亿等^[9]对膨化前后大豆中粗纤维含量的变化研究发现,经过膨化处理后粗纤维降低 65.4%。膨化过程高温、高压剧烈环境条件会使脂肪水解酶失活、脂肪细胞破裂,且溢出的脂肪还能与蛋白质和淀粉结合形成复合体,使游离脂肪的含量降低。但新形成的脂肪复合体可以起到降低脂肪的氧化速度、延长货架期、改善产品品质及口感的作用^[10]。膨化产品中的粗纤维含量显著减少,主要是

由于纤维分子间的化学键受到高压、高温和高剪切力发生断裂,分子极性发生改变,使可溶性纤维的含量增加。

发酵豆粕是指在一定的温度、湿度等条件下,选择利用一种或者几种微生物菌种对豆粕进行发酵处理,然后经过相应的干燥、粉碎等一系列生产过程的产品^[11]。发酵后豆粕中的小肽含量显著增加,可能是由于发酵过程中微生物分泌的蛋白酶降解大分子蛋白质,生成易吸收的小分子蛋白或小肽,从而提高豆粕的利用率与蛋白质的吸收率^[12-13]。同时,发酵豆粕中微生物蛋白含量增加,可能是豆粕发酵后蛋白质和氨基酸含量提高的原因之一。Steinkraus^[14]研究发现,微生物发酵可以把蛋白质水解为氨基酸、多肽及氨等小分子物质。本试验中,发酵豆粕中小肽含量的显著增加,可能是啤酒酵母菌、德氏乳酸杆菌及凝结芽孢杆菌混合发酵过程中多菌种多酶系配合的结果。豆粕在发酵过程中,微生物分泌各种消化酶类,其中一些脂肪酶类对豆粕中的脂肪产生了分解作用,使其降解成小分子物质,在供微生物生长和发酵所用的同时,也使得喂食发酵豆粕的动物对这些小分子营养物质有更高的利用效率,从而提高了发酵豆粕的营养价值^[15-17]。

3.2 不同处理对豆粕蛋白质溶解度、抗营养因子及黄曲霉毒素 B1 的影响

丁丽敏等^[18]认为,蛋白质溶解度在 60%~80% 为加热适度,大于 80% 为加热不足,且会导致肉鸡的生产性能降低,影响体质量增长及饲料转化率,本试验中膨化豆粕的蛋白质溶解度为 76.37%,而发酵豆粕为 69.24%。

豆粕的抗营养因子中,胰蛋白酶抑制因子、脲酶和大豆凝集素对热比较敏感,膨化处理可有效降低热敏性抗营养因子含量,但对胰蛋白酶抑制因子的失活效果各研究结果不尽一致。Fasina 等^[19]在 90~110 °C 膨化处理大豆 20 min,脲酶失活 73.9%~99.5%,胰蛋白酶抑制因子失活 89.6%~97.2%,凝集素失活 95.6%~100%。李素芬等^[20]研究报道,膨化温度为 90~120 °C 时,胰蛋白酶抑制因子、植物凝集素的含量分别由生大豆中的 47.43、3.09 mg/g 降低为 7.27、0 mg/g;且随着温度升高,抗营养因子失活越多。本试验结果显示,普通豆粕经 120 °C 膨化处理,胰蛋白酶抑制因子、凝集素和脲酶活性显著降低。加热膨化处理使化学成分为蛋白质的凝集素变性,从而失去其生物活性。脲酶不耐热,加热膨化可降低豆粕中的脲酶活性。脲酶活性与生产工艺、脱溶时间及大豆的软化、烘干、水蒸汽质量有关^[21]。

适当加热能使胰蛋白酶抑制因子等活性丧失,但加热不足对胰蛋白酶抑制因子等破坏不充分;加热过度又会破坏热敏氨基酸,如赖氨酸、精氨酸变性,降低蛋白质品质。

多菌混合发酵去除豆粕中抗营养因子主要依赖于微生物区系之间的相互作用。康立新^[22]利用微生物产生的特异性酶消除豆粕中的抗营养因子,同时积累了其他一些有益代谢产物,并对豆粕中的蛋白质进行一定程度的分解,从而获得具有多种功能的优质蛋白质饲料。本试验发酵豆粕中胰蛋白酶抑制因子含量降低,可能是因为混合发酵过程中产碱性蛋白酶和中性蛋白酶的枯草芽孢杆菌和产酸性蛋白酶的酵母菌在共同的环境下充分发挥其产酶活性所致。豆粕经过微生物发酵处理后,凝集素的含量明显降低,可能是利用微生物产生的一些特异性酶,对豆粕中的凝集素类蛋白质进行了一定程度的分解。

黄曲霉毒素 B1 耐高温,一般的加热处理很难将其消除。微生物方法可以降低黄曲霉毒素的毒性,主要是利用了微生物的转化作用。常用的微生物菌种有乳酸菌、黑曲霉、米根霉、葡萄球菌、灰蓝毛菌、橙色黄杆菌等。本试验结果也显示,以啤酒酵母菌、凝结芽孢杆菌和德氏乳酸杆菌发酵处理豆粕,降低黄曲霉毒素 B1 含量 46.15%。

3.3 微生物发酵处理对豆粕挥发性盐基氮含量及微生物菌群数量的影响

经啤酒酵母菌、凝结芽孢杆菌以及德氏乳酸杆菌发酵处理得到的发酵豆粕产品,含丰富的有益菌酵母菌、乳酸杆菌、芽孢杆菌及活菌数。产品中挥发性盐基氮含量低于行业标准 ≤ 1 mg/g 的卫生指标。另外,发酵豆粕中还含有维生素和一些未知的营养因子等,在一定程度上提高了豆粕的营养价值,促进动物的生长。

热处理中的膨化法是最常用的抗营养因子失活方法,可以消除豆粕中的部分抗营养因子,但具有降低豆粕中蛋白质和氨基酸含量的趋势,操作方便,但加热过度 and 加热不足都会使豆粕的营养效价和生物学活性降低;微生物发酵处理法是降解大豆抗营养因子最为彻底的手段,其不仅除去抗营养因子和降低霉菌毒素含量,还使产品中含有丰富的有益菌,可提高豆粕的营养价值,无需加热或添加一些化学试剂,生产过程安全环保,是生产中较理想的豆粕前处理方法,微生物发酵豆粕是一种比豆粕更优良的蛋白源。

参考文献:

[1] 谯仕彦,李德发.不同加工处理的大豆产品对早期断奶

- 仔猪的过敏反应、腹泻和粪中大肠杆菌影响的研究[J]. 动物营养学报, 1996, 8(3): 1-10.
- [2] Hirabayashi M, Matsui T, Yano H, *et al*. Fermentation of soybean meal with *Aspergillus usamii* reduces phosphorus excretion in chicks [J]. Poultry Science, 1998, 77(4): 552-556.
- [3] 孙常灿, 何晓丽, 杨容, 等. 大豆胰蛋白酶抑制剂微生物发酵灭活研究[J]. 畜禽业, 2007(6): 4-6.
- [4] Feng J, Liu X, Xu Z R, *et al*. Effects of *Aspergillus oryzae* 3.042 fermented soybean meal on growth performance and plasma biochemical parameters in broilers [J]. Animal Feed Science and Technology, 2007, 134(34): 235-242.
- [5] Hamscher G, Pawelzick H T, Sczesny S, *et al*. Antibiotics in dust originating from a pig-fattening farm: A new source of health hazard for farmers [J]. Environmental Health Perspectives, 2003, 111 (13): 1590-1594.
- [6] 侯水生. 善用酸化剂改善断奶仔猪胃肠消化功能[J]. 中国动物保健, 1999(6): 235-240.
- [7] 戴大章. 饲料中植物凝集素的快速检测方法——血凝法[J]. 饲料研究, 2003(1): 35.
- [8] 苏晓琳. 双螺杆挤压膨化对豆粕营养品质影响规律的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009.
- [9] 金希亿, 张宪国, 姜山, 等. 干法挤压膨化对大豆品质的影响及作用机理[J]. 饲料工业, 1995, 16(4): 9-11.
- [10] 郭树国, 王丽艳, 郭树行. 豆粕挤压膨化过程中化学成分变化分析[J]. 中国农机化, 2005(1): 67-69.
- [11] 曹钰, 蔡国林, 陆健. 提高豆粕营养价值的研究进展[J]. 新饲料, 2007(6): 13-15.
- [12] Omogba I B A, Ikenebomeh M J, Ojeaburu S I. Microbial utilization of stachyose in soymilk yogurt production [J]. African J Biotechnol, 2005, 4(9): 905-908.
- [13] 刘晓艳, 国立东, 孟丹, 等. 大豆豆粕及其多肽制备工艺[J]. 现代农业科技, 2011(10): 353-354.
- [14] Steinkraus K H. Indonesian tempe and related fermentations [M] // Handbook of indigenous fermented foods. New York: New York Marcel Dekker Inc, 1996: 7-100.
- [15] 曹日亮, 闫柳松, 孙建钢. 发酵豆粕对生长育肥猪生长性能的影响 [J]. 山西农业科学, 2008, 36 (11): 118-119.
- [16] 黄小琴, 刘勇, 周西全. 枯草芽孢杆菌 Bs2004 固体发酵与干燥工艺研究 [J]. 现代农业科技, 2011(1): 186-187.
- [17] 刘天蒙, 宋俊梅, 秦思思. 米曲霉固态发酵豆粕产蛋白酶条件的研究 [J]. 现代农业科技, 2010 (20): 333-334.
- [18] 丁丽敏, 沈慧乐, 计成, 等. 豆粕蛋白溶解度与肉仔鸡生产性能关系的研究 [J]. 动物营养学报, 1998, 10 (2): 52-58.
- [19] Fasina Y O, Classen H L, Garlich J D, *et al*. Investigating the possibility of monitoring lectin levels in commercial soybean meals instead for poultry feeding using steam-heated soybean meal as a model [J]. Poult Sci, 2003, 82(4): 648-656.
- [20] 李素芬, 杨丽杰, 霍贵成. 膨化处理对全脂大豆抗营养因子及营养价值的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2001, 32 (3): 193-201.
- [21] 吴道银. 豆粕的质量控制 [J]. 四川粮油科技, 2002 (3): 13.
- [22] 康立新. 发酵法去除豆粕中抗营养因子及提高其营养价值的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2003.