河南农业科学,2016,45(12):161-164
Journal of Henan Agricultural Sciences
doi:10.15933/j.cnki.1004-3268.2016.12.033

# 酶菌协同发酵玉米秸秆生产蛋白饲料的研究

刘　辉[1],田亚红[2],刘子艳[1],李亚子[2]
(1.唐山工业职业技术学院,河北 唐山 063229; 2.华北理工大学 生命科学学院,河北 唐山 063000)

**摘要**:为提高玉米秸秆饲料的营养价值,首先,通过添加不同发酵剂确定最佳发酵剂为纤维素酶和酵母菌混合物;然后,通过单因素试验和正交试验,优化酶菌协同发酵玉米秸秆生产蛋白饲料的工艺,考察了发酵时间、酶菌比例、料液比和发酵温度对玉米秸秆发酵饲料粗蛋白含量的影响。结果表明,最佳工艺条件为:发酵时间 48 h,酶菌混合比例 8∶15,料液比 1∶20,温度 35 ℃。在此条件下,发酵产品的粗蛋白含量达 29.71 %,较发酵前提高 4.67 倍。

**关键词**:玉米秸秆;纤维素酶;酵母菌;发酵;蛋白饲料
**中图分类号**:S816.5　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1004-3268(2016)12-0161-04

# Production of Protein Feed from Corn Stalk by Co-fermentation of Enzyme and Microorganisms

LIU Hui[1],TIAN Yahong[2],LIU Ziyan[1],LI Yazi[2]
(1.Tangshan Polytechnic College,Tangshan 063229,China; 2.College of Life Science,North China University of Science and Technology,Tangshan 063000,China)

**Abstract**: To improve the nutritional value of corn straw protein feed,the protein feed was produced by cellulase and yeast with corn stalk as raw material. Firstly,by comparing different fermentation agents,the optimum type was cellulase and yeast mixture. Secondly, by single factor and orthogonal experiments,the best process conditions of cellulase and yeast co-fermentation were determined. The effects of fermentation time, ratio of cellulase and yeast, solid-liquid ratio and temperature were investigated. The results showed the optimum conditions were as follows: fermentation time of 48 h,ratio of cellulase and yeast of 8∶15, solid-liquid ratio of 1∶20,and temperature of 35 ℃. Under the optimum conditions,the crude protein content of the fermented products reached 29.71%, which was 4.67 times higher than that before fermentation.

**Key words**: stalk of corn; cellulase; yeast; fermentation; protein feed

玉米是我国主要农作物之一,在我国北方大面积种植,每年都会产生大量的玉米秸秆,年产量约为 2.4 亿 t[1]。由于其粗纤维含量较高,动物消化吸收率低,营养成分减少,适口性降低。除少部分被用作家畜的粗饲料和秸秆还田作肥外,其余秸秆均被焚烧废弃,利用率不足 10%,这样既造成了天然资源的巨大浪费,也污染了环境[2-4]。因此,如何提高玉米秸秆饲料的适口性、利用率和消化率,降低其对环境的污染,成为亟待解决的问题。

玉米秸秆主要由纤维素、半纤维素、木质素等成分组成,并共存于植物纤维原料中。由于结构复杂,严重阻碍了酶解的进行。目前,国内外学者对玉米秸秆发酵饲料进行了广泛研究,主要集中在不同预处理方法的研究[5-6]、纤维素酶降解条件的优化[7-8]以及多菌种发酵生产蛋白饲料[9-10]等方面,在秸秆降解方面取得了一定的效果,然而粗蛋白含量仍较

**收稿日期**:2016-06-10
**基金项目**:华北理工大学校级大学生创新项目(X2014081)
**作者简介**:刘　辉(1979-),男,河北滦县人,副教授,硕士,主要从事应用微生物方面的研究。E-mail:liuhuityh1979@126.com
**网络出版时间**:2016-11-25　14:24:33
**网络出版地址**:http://www.cnki.net/kcms/detail/41.1092.S.20161125.1424.024.html

低。为提高玉米秸秆发酵饲料的粗蛋白含量,利用纤维素酶和酵母菌种共同发酵玉米秸秆,发挥酶、菌的相互作用,并研究酶菌协同发酵生产蛋白饲料的影响因素,以期为利用玉米秸秆生产蛋白饲料提供一种新途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 原料 玉米秸秆取自唐山市某大田,粉碎过 841 μm 筛,备用。

1.1.2 菌种和酶 安琪酵母(酿酒曲)、纤维素酶由华北理工大学生命科学学院微生物实验室提供。

1.1.3 主要仪器 722 型可见光分光光度计购自上海光谱仪器有限公司;101 -1AB 型电热鼓风干燥箱购自天津市泰斯特仪器有限公司;DNP -902 电热恒温培养箱购自上海精宏实验设备有限公司;YXQ -280SI 型手提式高压蒸汽灭菌锅购自上海经济区嘉兴市中新医疗仪器有限公司;TDA -8002 电热恒温水浴锅购自余姚市东方电工仪器厂;SKD -2000 全自动凯氏定氮仪购自上海沛欧分析仪器公司。

### 1.2 方法

1.2.1 最佳发酵剂确定 按照玉米秸秆发酵对发酵剂的不同需求,添加纤维素酶(0.8%)、纤维素酶与酵母混合物(8:20)进行发酵,同时以未添加发酵剂的发酵产物为对照(CK),测定发酵饲料的粗蛋白含量,确定最佳的发酵剂种类。

1.2.2 酶菌协同发酵玉米秸秆制备蛋白饲料的单因素试验

1.2.2.1 发酵时间 在发酵温度 35 ℃、料液比 1:20、酶菌比例 8:20 条件下,研究不同发酵时间(18 h、28 h、38 h、48 h、58 h、68 h)对发酵产物粗蛋白含量的影响。

1.2.2.2 酶菌比例 在发酵时间 48 h、温度 35 ℃、料液比为 1:20 条件下,研究不同酶菌复配比例(8:5、8:10、8:15、8:20、8:25)对发酵产物粗蛋白含量的影响。

1.2.2.3 料液比 在发酵时间 48 h、温度 35 ℃、酶菌比 8:20 条件下,研究不同料液比(1:25、1:22、1:20、1:18、1:16)对发酵产物粗蛋白含量的影响。

1.2.2.4 发酵温度 在发酵时间 48 h、料液比 1:20、酶菌比例 8:20 条件下,研究不同温度(25 ℃、30 ℃、35 ℃、40 ℃、45 ℃)对发酵产物粗蛋白含量的影响。

1.2.3 酶菌协同发酵玉米秸秆制备蛋白饲料的正交试验 以粗蛋白含量为考察指标,考察发酵时间、酶菌比例、料液比和发酵温度对粗蛋白含量的影响。设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,因素及水平如表 1。

**表 1 玉米秸秆发酵正交试验因素水平**

| 水平 | 发酵时间(A)/h | 酶菌比例(B) | 料液比(C) | 发酵温度(D)/℃ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 38 | 8:15 | 1:22 | 30 |
| 2 | 48 | 8:20 | 1:20 | 35 |
| 3 | 58 | 8:25 | 1:18 | 40 |

1.2.4 粗蛋白含量测定 采用微量凯氏定氮法测定样品的含氮量[11]。粗蛋白含量 = 6.25 × 含氮量 ×100%。

### 1.3 数据处理

应用 Excel 软件对单因素试验数据进行分析,采用正交设计助手 3.1 版软件对正交试验的因素与水平进行直观分析和方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米秸秆发酵最佳发酵剂的确定

由图 1 可知,在相同的发酵条件下,未添加发酵剂(CK)时,玉米秸秆发酵后所得粗蛋白含量为 5.24%,培养基中添加纤维素酶、纤维素酶与酵母菌混合物后,粗蛋白含量分别为 20.11% 和 24.78%,均远高于对照组。采用纤维素酶和酵母混合培养即酶菌协同发酵时,粗蛋白含量最高,其原因可能是利用纤维素酶将纤维素转化为单糖(葡萄糖)、双糖后,立即被酵母菌所利用,同时将培养物中部分无机氮转化为菌体蛋白,达到使秸秆饲料营养价值提高的目的[12]。故采用酶菌协同发酵玉米秸秆生产蛋白饲料。

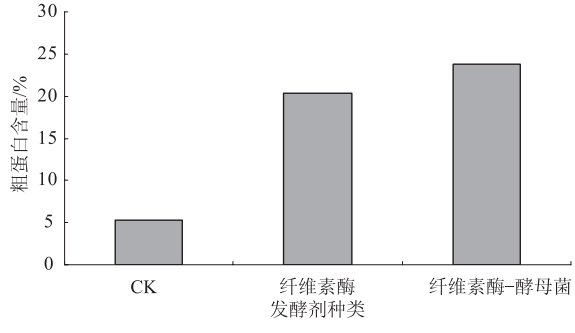



**图 1 不同发酵剂对粗蛋白含量的影响**

### 2.2 玉米秸秆发酵单因素试验结果

2.2.1 发酵时间 由图 2 可知,发酵时间为 18 h 时,发酵产物粗蛋白含量最低,为 14.88%,随着发

酵时间的增加,粗蛋白含量逐渐升高,48 h 以后呈降低趋势。发酵 48 h 时,粗蛋白含量最高,为 25.75%。因此,确定最佳发酵时间为 48 h。

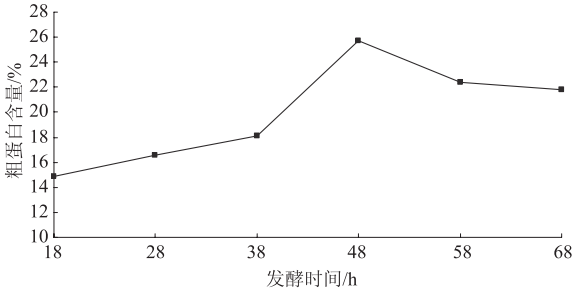



**图 2　不同发酵时间对粗蛋白含量的影响**

2.2.2　*酶菌比例*　由图 3 可知,当酶菌的复配比例为 8:5 时,粗蛋白含量最低,为 12%。当酶菌复配比例为 8:20 时,发酵饲料中的粗蛋白含量最高,为 24.38%。其发酵产物色泽淡黄,带有酒香,干燥后色泽变化不大。因此,最佳酶菌复配比例为 8:20。

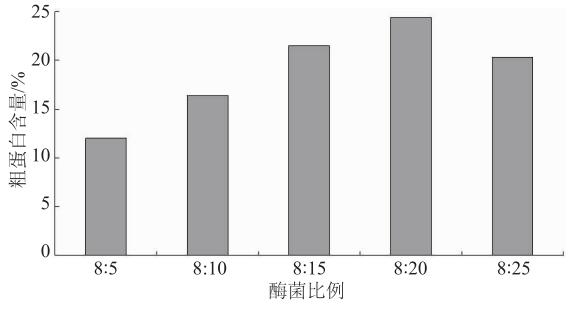



**图 3　不同酶菌复配比例对粗蛋白含量的影响**

2.2.3　*料液比*　由图 4 可知,当料液比较低时,发酵产物的粗蛋白含量呈上升趋势,当基质中料液比为 1:20 时,发酵产品中粗蛋白含量达到最高,为 27.75%。可能是由于发酵培养基中颗粒疏松度合适,有利于酵母菌生长繁殖[13-14],继续提高培养基中的料液比,粗蛋白含量反而降低。因此,适宜的料液比为 1:20。

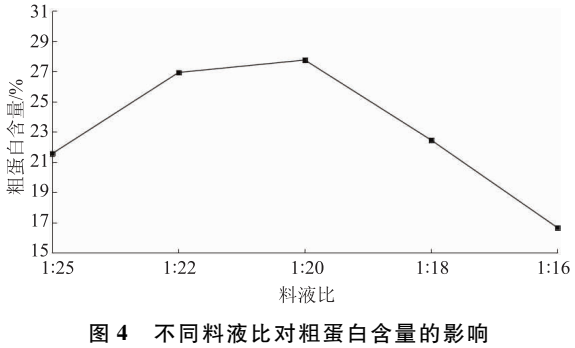



**图 4　不同料液比对粗蛋白含量的影响**

2.2.4　*发酵温度*　由图 5 可知,随着发酵温度的升高,发酵物粗蛋白含量呈先增加后降低的趋势,当培养基温度为35 ℃时,发酵产品中粗蛋白含量达到最高,为27.80%,这可能是因为 35 ℃时菌种活度和含量较为适宜,有利于玉米秸秆饲料中纤维素分解,粗蛋白含量增加。因此,适宜的温度为 35 ℃。

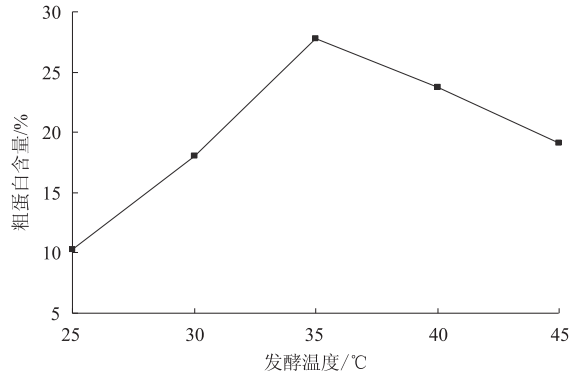



**图 5　不同温度对粗蛋白含量的影响**

## 2.3　玉米秸秆发酵正交试验结果与分析

由表 2 的极差分析可知,各因素对玉米秸秆发酵产粗蛋白的影响顺序由大到小为 A > B > D > C,即发酵时间 > 酶菌比例 > 发酵温度 > 料液比,最佳组合方式为 $A_2B_1C_2D_2$,即发酵时间 48 h,纤维素酶和酵母菌混合比例为 8:15,料液比 1:20,培养温度 35 ℃。由表 3 方差分析的结果可知,发酵时间对发酵饲料粗蛋白含量的影响达显著水平,而酶菌比例、料液比和发酵温度的影响不显著,与直观分析结果一致。在上述最优发酵条件下,发酵产物粗蛋白含量平均为 29.71%,达到蛋白质饲料所要求的含量,与发酵前的粗蛋白含量(5.24%)相比,提高了 4.67 倍。且发酵产物色泽淡黄,带有酒香,营养成分增加,适口性好,这样在一定程度上有利于动物吸收,提高玉米秸秆的利用价值。

**表 2　玉米秸秆发酵正交试验结果**

| 试验编号 | 发酵时间(A) | 酶菌比例(B) | 料液比(C) | 发酵温度(D) | 粗蛋白含量/% |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 24.88 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 26.25 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 22.38 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 29.12 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 27.38 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 26.75 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 28.38 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 27.75 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 25.00 |
| $k_1$ | 24.50 | 27.46 | 26.46 | 25.75 | |
| $k_2$ | 27.75 | 27.13 | 26.79 | 27.13 | |
| $k_3$ | 27.04 | 24.71 | 26.05 | 26.42 | |
| $R$ | 3.25 | 2.75 | 0.74 | 1.37 | |

**表 3 方差分析结果**

| 因素 | 偏差平方和 | 自由度 | *F* 值 |
|---|---|---|---|
| A | 17.492 | 2 | 21.024 * |
| B | 13.514 | 2 | 16.243 |
| C | 0.832 | 2 | 1.000 |
| D | 2.830 | 2 | 3.401 |

注：* 表示显著（$P<0.05$）。

## 3 结论与讨论

本试验对发酵玉米秸秆生产蛋白饲料的工艺进行研究。首先，对酶菌协同发酵与单独纤维素酶发酵生产生物蛋白饲料的工艺进行了比较，结果表明，酶菌协同发酵生产的粗蛋白含量优于单独纤维素酶发酵。其次，确定了酶菌协同发酵蛋白饲料的最佳工艺条件：发酵时间为 48 h，纤维素酶和酵母菌混合比例为 8∶15，料液比为 1∶20，培养温度为 35 ℃。在此条件下，发酵产品的粗蛋白含量由 5.24% 上升到 29.71%，提高了 4.67 倍，高于国家规定的蛋白饲料中的蛋白质含量，比廖学义等[15]采用木霉与酵母混合发酵秸秆生产蛋白饲料提高了 2 倍左右，比张伟心等[16]采用混合菌发酵玉米秸秆生产蛋白饲料提高了 1.5 倍，比王慧杰等[9]采用多种混合菌发酵玉米秸秆生产蛋白饲料提高了 1.1 倍，改善了饲料的营养价值。玉米秸秆经固态发酵转化为蛋白质饲料，既充分利用了农业废弃物资源，又可缓解蛋白质饲料短缺的现状，本研究结果为玉米秸秆生产蛋白质饲料提供了新思路。

**参考文献：**


[1] 冯伟，黄力程，李文才. 我国农作物秸秆资源化利用的经济分析：一个理论框架[J]. 生态经济，2011(2)：94-96，115.

[2] 孙芹英，葛春梅，张洁，等. 微生物转化玉米秸秆用于饲料生产的研究[J]. 河南农业科学，2011，40(6)：149-152.

[3] 马旭光，张宗舟. 微生物降解农作物秸秆生产 SCP 饲料的研究进展[J]. 资源开发与市场，2010，25(7)：524-526.

[4] Yeh A I，Huang Y C，Chen S H. Effect of particle size on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulose[J]. Carbohydrate Polymers，2010，79(1)：192-199.

[5] 王璐璐，蔡国林，朱德伟，等. 球磨预处理和固态发酵对玉米秸秆饲用品质的影响[J]. 食品与生物技术学报，2014，33(11)：1148-1153.

[6] Sukumaran R K，Singhania R R，Mathew G M，*et al*. Cellulase production using biomass feed stock and its application in lignocellulose saccharification for bio-ethanol production[J]. Renewable Energy，2009，34(2)：421-424.

[7] 陈合，张强. 菌酶共降解玉米秸秆的工艺研究[J]. 农业工程学报，2008，24(3)：270-273.

[8] 余建军. 酶菌共降解玉米秸秆及饲料化工艺研究[D]. 西安：陕西科技大学，2010.

[9] 王慧杰，李自刚，辛婷，等. 多菌种混合发酵玉米秸秆生产含酶蛋白饲料的研究[J]. 湖南农业科学，2011，(7)：125-128.

[10] 马光，郭继平. 米曲霉发酵玉米秸秆产纤维素酶饲料条件的优化[J]. 生物技术，2010，20(6)：81-85.

[11] 常丽新，田秀红，闫峰，等. 食品分析技术[M]. 北京：中国科学技术出版社，2004.

[12] 孟顺利，张力，史兆国，等. 绿色木霉、红芝、酵母三菌混合发酵稻草秸秆生产蛋白饲料条件的研究[J]. 甘肃农业大学学报，2015，50(6)：6-11.

[13] 明红梅，陈蒙恩，周健，等. 复合微生物菌剂发酵酒精糟生产蛋白饲料的研究[J]. 粮食与饲料工业，2015(1)：49-52.

[14] 冀凯丽，何玉华. 微生物发酵水飞蓟粕、马铃薯渣最佳条件的优化[J]. 吉林农业科技学院学报，2015，24(1)：10-12.

[15] 廖学义，冯桦林，吴传兵，等. 木霉与酵母混合发酵秸秆生产蛋白饲料的研究[J]. 粮食与饲料工业，2010(10)：44-46.

[16] 张伟心，马艳玲，霍玉鹏. 混合菌发酵玉米秸秆生产菌体蛋白饲料的研究[J]. 饲料研究，2000(6)：5-6.