

啤酒麦糟制备蛋白饲料 过程中蛋白质的转化*

刘 力

刘超纲 余世袁

(浙江林学院, 临安 311300)

(南京林业大学)

摘 要 啤酒麦糟经湿磨、稀酸预水解和酶水解后, 有37%的麦糟蛋白溶解在水解糖液中。糖液供培养酵母用, 溶解在其中的麦糟蛋白质的40%~50%能被酵母利用转化成酵母蛋白。产酶用的纤维渣中保留了20%的麦糟蛋白。在产酶过程中菌丝体可溶解并利用其中30%的麦糟蛋白质合成纤维素酶。63%的麦糟蛋白质留在滤渣、预水解渣、酶解渣和产酶渣中, 干燥后与酵母混合制成蛋白饲料。麦糟蛋白质在所选用的工艺条件下, 基本不受损失。

关键词 啤酒麦糟; 纤维素酶; 高蛋白饲料

中图分类号 S816.2

啤酒麦糟是啤酒生产的主要副产品, 全国各种类型的啤酒厂每年排放的干糟量高达 100 万 t^[1], 目前大都干燥后廉价出售作饲料。由于麦糟中蛋白质的氨基酸组成不平衡, 不易被动物吸收利用, 消化率低, 生物效价低, 浪费了大量蛋白质资源。而用纤维素酶技术将麦糟中的纤维素转化成单糖, 而后通过发酵制取单细胞蛋白, 生产活性高蛋白饲料, 是提高啤酒麦糟生物效价及利用价值的好方法^[2]。麦糟中蛋白质含量高达20%(干基), 因而它在制备高蛋白饲料各步骤的变化值得重视和研究。搞清蛋白质的变化及影响因素, 设法减少损失和提高菌类的利用率, 可提高产品的质量和价格, 取得较高的经济效益。本文分析了啤酒麦糟加工过程中麦糟蛋白的溶解与利用规律, 为进一步提高麦糟的利用率和优化生产高蛋白饲料方法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

湿麦糟取自南京金陵啤酒厂, 其主要成分为纤维素19.15%, 半纤维素22.20%, 粗蛋白29.70%, 木质素10.26%, 淀粉7.83%, 还原糖2.66%, 灰分和其他8.20%(以上均为干基)。湿麦糟含水率为80%左右。

收稿日期: 1994-10-19

*国家自然科学基金资助项目

1.2 湿磨预处理

湿啤酒麦糟用磨浆机湿磨, 经压榨、洗涤和再压榨, 分离出浆液和粗纤维。浆液澄清过滤后分离出淀粉液(上清液)和滤渣。粗纤维风干后用于预水解、产酶和酶解。

1.3 稀酸预水解

粗纤维用0.75%的硫酸浸泡12 h后, 于121~125℃保温80~90min进行预水解。然后用双层纱布过滤, 洗涤, 分离预水解糖液和纤维渣。

1.4 纤维素酶制备

粗纤维经预水解后置于锥形瓶中, 加水至麦糟浓度10%, 加入营养盐, 使得碳氮比为8.5, 接入里氏木霉(*Trichoderma reesei*) Rut C₃₀菌种, 于26℃恒温摇瓶培养箱中进行产酶。定时取样, 将培养物全部移入塑料离心管中, 置于高速离心机上(3 000 r/min)离心分离10min。上层清液测定pH值、滤纸酶活和蛋白质含量; 残渣(产酶渣)测定蛋白质含量。

1.5 酶水解

供酶水解实验用的纤维素酶是由实验室自己制备的。制得的粗纤维素酶液用盐析法浓缩后存放在-15℃冰箱内保存备用。使用前解冻。

经稀酸预水解后分离出来的纤维渣用纤维素酶进行酶解。将纤维渣置于锥形瓶中, 加营养元素和酶液, 加水至粗纤维浓度20%(W/V), 并调节pH值至4.5~4.8, 放入45~50℃恒温水浴中酶解48 h。取出样品, 过滤分离清液和酶解渣。清液(酶解糖液)定容, 测定还原糖和蛋白质含量。酶解渣测定蛋白质含量。

1.6 酵母繁殖

预水解液和酶解液等糖液混合, 调节混合糖液的pH值为4.8, 静置后过滤。清液供培养酵母。

取上述混合清液于锥形瓶中, 加入营养盐和氮源。在121~125℃下灭菌15~20min, 冷却后接入产阮假丝酵母菌种。放入30℃、150 r/min的恒温培养箱中培养24 h后取出, 用高速离心机(3 000 r/min)离心10 min。上清液测定蛋白质、还原糖和终止pH值。

1.7 测定方法

水分测定采用标准方法; 纤维素测定采用硝酸-乙醇法; 戊聚糖测定按GB 2677.9-1981中二溴化法; 木质素含量按GB 2677.7-1981方法测定; 还原糖的测定采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)还原糖测定法; 蛋白质测定采用凯氏定氮法; 滤纸酶活力按照IUPAC推荐的国际标准方法测定^[3~5]。

2 结果与讨论

2.1 原料预处理过程中蛋白质的分布

湿麦糟经湿磨、压榨、洗涤和再压榨, 分离浆液和粗纤维; 浆液静置后过滤分离淀粉液(上层清液)和滤渣; 粗纤维用稀硫酸预水解, 分离纤维渣和预水解糖液; 纤维渣用于产酶和酶解; 淀粉液、预水解糖液及酶解糖液混合供繁殖酵母; 湿磨滤渣中保留了麦糟中近一半的蛋白质, 干燥后可与酵母等产物混合制成高蛋白饲料。

原料预处理过程各产物的蛋白质含量见表1。从表1中可以看出, 湿磨并不能增加麦糟

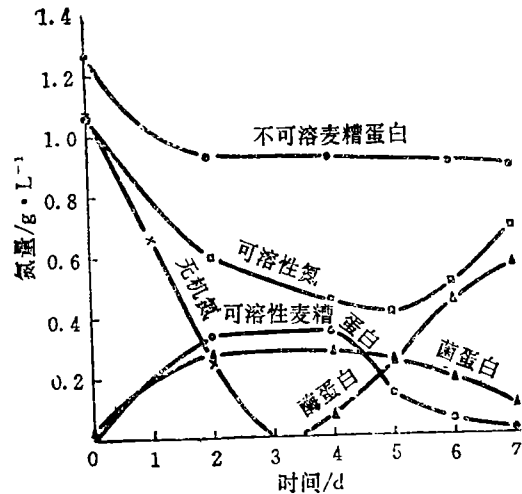
蛋白的溶解性，只有占总量3.1%的麦糟蛋白溶解在淀粉液中，其余仍分布在湿磨滤渣和粗纤维中。但是，稀硫酸预水解由于破坏了麦糟蛋白与半纤维聚糖的结合键，粗纤维中所含的麦糟蛋白有一半以上溶解在预水解糖液中。淀粉液和预水解糖液用于繁殖酵母，其中含糖和可溶性蛋白质。占麦糟蛋白质总量30.0%的蛋白质溶解在其中。如这部分麦糟蛋白被酵母利用转变成酵母蛋白，则可使蛋白质的氨基酸配比合理，生物效价提高。纤维渣主要含纤维素，用10.0%左右的纤维渣产酶，所产酶液用于其余90.0%纤维渣的酶水解，酶解所得糖液用于酵母繁殖。由于麦糟蛋白质总量的20.0%的蛋白质仍保留在纤维渣中，在产酶和酶解过程中这部分蛋白质能否被溶解和利用，如何变化值得注意。

表1 预处理各产物蛋白质的含量(干基)
Table 1 Protein contents after pretreatment (dry weight)

项	目	质 量 /g	蛋 白 质 /g	占 蛋 白 质 总 量 的 比 例 /%
预处理前	啤 酒 麦 糟	100.00	29.70	100.00
预处理后	1 浆 液	32.07	14.90	50.17
	其中: 淀 粉 液		0.92	3.10
	滤 渣		13.98	47.07
	2 粗 纤 维	67.93	14.80	49.83
	其中: 预水解糖液		8.83	29.73
	纤 维 渣		5.97	20.01

2.2 产酶过程中麦糟蛋白质的溶解与利用

产酶过程各类蛋白质和无机氮的变化规律如附图所示。在产酶过程中，菌丝体利用碳源和氮源迅速繁殖，当营养物质大部分被消耗时，菌丝体繁殖速度减慢，纤维素酶开始分泌出来。从图可见，到产酶第2天，75%以上的无机氮被消耗完，纤维素酶开始大量分泌，酶活增长，而菌丝体的生长基本停止。第4天以后，纤维素酶活继续提高，菌丝体由于本身产生的酶和代谢产物的作用而逐渐死亡。



附图 产酶过程各类蛋白质的变化
Add. fig. Protein profiles in cellulase production

在产酶过程中纤维素被菌丝体逐渐降解消耗，使部分原先与纤维素结合的蛋白质被释放溶解。整个产酶过程消耗78%~80%的纤维素，约50%的纤维素在前两天被消耗^[9]。附图结果表明，确有部分不溶性麦糟蛋白被释放溶解，一半以上在前两天进行，与纤维素的消耗同步。但前两天溶解的麦糟蛋白基本未被菌丝体利用，因为此时菌丝体主要利用无机氮。第3天以后，无机氮被全部消耗完，菌丝体开始利用溶解的麦糟蛋白。尽管不溶性麦糟蛋白仍在缓慢释放，但可溶性麦糟蛋白浓度开始下降，整个产酶过程约有30%的麦糟蛋白被溶解利用。这部分被利用的蛋白质主要用于合成纤维素酶。从附图中可看出当麦糟蛋白质的曲线下降时，酶蛋白的曲线上升。

2.3 纤维素酶降解过程中麦糟蛋白的溶解

酶解前后蛋白质总量基本相同(表2)，即在酶解过程中麦糟蛋白质基本无损失。当纤维素降解成单糖时，部分麦糟蛋白质也溶解，并且随着纤维素降解率的提高，麦糟蛋白质的溶解量提高，说明原先与聚糖结合的麦糟蛋白质随着纤维素的降解被释放溶解。当酶量由4 FPIU/g 绝干纤维渣提高到12 FPIU/g 绝干纤维渣时，纤维素的降解率由56.8% 提高到76.5%，溶解在糖液中的蛋白质由4.66 g/L 提高到11.46 g/L。扣除酶液所含的蛋白质，在酶解过程中可溶解20.0%左右的麦糟蛋白质，低于产酶过程。其主要原因：一是在产酶过程中纤维素降解率略高于酶解过程；二是为使样品均匀，对酶解所用纤维渣做了进一步的粉碎，因而预处理时麦糟蛋白质溶解得较多，使酶解时麦糟蛋白质的溶解减少。

表2 酶解过程蛋白质的变化

Table 2 Protein utilization in enzymatic hydrolysis

酶量/FPIU·g ⁻¹	麦糟纤维素 降解率/%	酶解前蛋白质含量/g·L ⁻¹			酶解后蛋白质含量/g·L ⁻¹		
		酶液*	纤维渣	合计	糖液	酶解渣	合计
4	58.8	2.66	16.40	19.06	4.66	14.60	19.26
8	63.7	5.34	18.40	21.74	7.94	13.26	21.20
12	76.5	8.00	16.40	24.40	11.46	12.80	24.26

*此酶液中残留少量(NH₄)₂SO₄

2.4 酵母繁殖条件对麦糟蛋白质利用的影响

淀粉液、预水解糖液和酶解糖液混合后用于繁殖酵母。如不加氮源和营养盐直接发酵，其麦糟蛋白质利用率不高，只有约20%的麦糟蛋白质被利用(表3，试验1)。而加入较大量的氮源及营养盐后，麦糟蛋白质的利用率也不高(表3，试验4)。当加入适量的磷酸二氢钾(KH₂PO₄)和少量的氨水(NH₃·H₂O)之后，麦糟蛋白质的利用率可提高到50%左右(表3，试验3)。加入磷酸二氢钾给发酵液补充了缺乏的磷酸盐，而加入氨水使C/N和pH值较为合适，使酵母对蛋白质的利用率提高。在合适的营养盐条件下，酵母细胞不但可以利用碳源繁殖，而且还可利用可溶性麦糟蛋白大量增殖。表3的试验2和3加了同样数量的氨水，使得总氮浓度为0.573 g/L(其中麦糟蛋白含氮量为0.512 g/L，氨水含氮量为0.061 g/L)，但试验2添加了磷酸(H₃PO₄)，而试验3添加的是磷酸二氢钾。在试验2中，还原糖消耗了6.28 g/L，产出了3.04 g/L酵母，每消耗2.00 g糖约产出1.00 g酵母。但在试验3中，消耗了9.67 g/L还原糖，却产出了7.20 g/L酵母，产出1.00 g酵母仅消耗1.34 g糖。显然，这是因为在磷酸二氢钾的促进下，酵母利用麦糟蛋白大量繁殖所致。通过酵母繁殖将麦糟蛋白转化成为

表3 酵母繁殖结果
Table 3 Results of yeast fermentation

编号	加入氮源及营养盐	发 酵 前*			发 酵 后		
		总氮(g/L)	还原糖/g·L ⁻¹	C/N	总氮/g·L ⁻¹	还原糖/g·L ⁻¹	酵母/g·L ⁻¹
1	无	0.574	15.33	10.7	0.461		
2	H ₃ PO ₄ , NH ₃ ·H ₂ O	0.573	11.90	8.0	0.413	5.62	3.04
3	KH ₂ PO ₄ , NH ₃ ·H ₂ O	0.573	11.90	8.0	0.288	2.23	7.20
4	尿素, KH ₂ PO ₄ , MgSO ₄ ·7H ₂ O NaCl, (NH ₄) ₂ HPO ₄	0.950	13.40	5.6	0.573	2.13	

* 除试验1外,其余麦糟蛋白含量为3.20g/L,折合含氮量为0.512g/L

氨基酸组分齐全的酵母蛋白,具有十分重要的应用价值。

2.5 啤酒麦糟制备蛋白饲料全过程中麦糟蛋白的分析

啤酒麦糟在以上处理过程中所得到的糖液(包括淀粉液、预水解糖液和酶解糖液)用于制备酵母蛋白。酵母蛋白与处理过程中所有的固体渣(湿磨滤渣、产酶渣和酶解渣)一起干燥制成蛋白饲料。100g啤酒麦糟可制成68~70g含蛋白质42%以上的蛋白饲料。其中,麦糟蛋白的溶解情况如表4所示。占啤酒麦糟蛋白总量(297g/kg)麦糟)37%的麦糟蛋白在加工过程中转化成可溶性蛋白质,其中的40%可被酵母细胞利用转化成酵母蛋白。整个加工过程麦糟蛋白基本上不损失。如何进一步提高可溶性麦糟蛋白的转化率,是今后研究工作值得重视的问题。其余63%的麦糟蛋白仍以不可溶蛋白质形式存在于固体渣中,被干燥后作为饲料蛋白保留在蛋白饲料中。

表4 100g啤酒麦糟加工过程麦糟蛋白的溶解
Table 4 Dissolution of barley protein in the processing of
100g barley grain residue

预 处 理 产 物	麦糟蛋白含量/g	加工过程麦糟 蛋白溶解情况	转化成可溶性 的麦糟蛋白/g	不 溶 性 麦 糟 蛋 白/g
湿磨淀粉液	0.92	可 溶 性	0.92	0
预水解糖液	8.83	可 溶 性	8.83	0
纤维渣(10%用于产酶)	0.60	30%可溶被利用	0.18	0.42
纤维渣(90%用于酶解)	5.37	20% 可 溶	1.07	4.30
湿磨滤渣	13.98	不 可 溶	0	13.98
合 计			11.00	18.76
占总麦糟蛋白质的百分比/%			37	63

3 结论

3.1 啤酒麦糟在湿磨和预水解中基本不损失麦糟中的蛋白质。47.7%的麦糟蛋白质留在湿磨分离出的滤渣中,干燥后可与酵母等混合作为蛋白饲料;32.83%的麦糟蛋白溶解在淀粉液和预处理糖液中,供酵母繁殖;只有20.01%的麦糟蛋白留在纤维渣中,纤维渣用于产酶和酶水解。

- 3.2 在产酶过程中,纤维渣中的纤维素被降解,纤维渣中30%左右的麦糟蛋白被释放溶解,溶解后的麦糟蛋白在全部无机氮消耗完之后被菌丝体利用于合成纤维素酶。
- 3.3 在酶水解过程中,纤维渣中纤维素被纤维素酶水解,因而部分麦糟蛋白被释放溶解,随着纤维素降解率的提高,麦糟蛋白质的溶解量也提高。如纤维素的降解率达70%以上时,能溶解纤维渣中20%的麦糟蛋白。
- 3.4 在较合适的条件下,用淀粉液、预水解液和酶解糖液混合液繁殖酵母,溶解在混合液中40%以上的可溶性麦糟蛋白质能被酵母用于生产酵母蛋白,从而改善蛋白质的氨基酸组成。
- 3.5 啤酒麦糟制备蛋白饲料的整个加工过程中,麦糟蛋白质基本不受损失。占总量37%的麦糟蛋白在加工过程中被溶解成为可溶性的蛋白质;其余63%的麦糟蛋白仍保留在湿磨滤渣、预水解渣、酶解渣和产酶渣中,经干燥后可与酵母混合制成蛋白饲料。溶解的麦糟蛋白质在繁殖酵母时能被利用40%以上。这证实了蛋白质不是培养微生物的最好的氮源,尤其是植物性的麦糟蛋白较难被酵母利用,因而利用率不高。能否进一步提高蛋白质的利用率,有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 谭鹤群,饶应昌.锥形离心筛应用于啤酒糟脱水的研究.全国首届饲料工业高新技术产品交易会暨学术研讨会论文.杭州,1993
- 2 余世袁,夏黎明,刘超纲等.纤维素酶在制备蛋白饲料中的应用.全国首届饲料工业高新技术产品交易会暨学术研讨会论文.杭州,1993
- 3 北京造纸所编.造纸工业化学分析.北京:轻工业出版社,1979
- 4 天津轻工业学院等编.工业发酵分析.北京:轻工业出版社,1979
- 5 Ghose T K. *Pure & Appl Chem*, 1987, 59:257~268
- 6 王捷.木质纤维原料制备纤维素酶及酶水解的机理研究.[学位论文].南京:南京林业大学,1991

Liu Li (Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, PRC), Liu Chaogang,
and Yu Shiyuan. Conversion of Protein in the Production of High Protein
Feeds from Barley Grain Residue. *J Zhejiang For Coll*, 1995, 12(1):40~45

Abstract: In the process of feedstuff production, barley grain residue was ground, prehydrolysed and enzymatically hydrolysed. Some 37% of barley protein could be dissolved in sugar solution used for yeast fermentation which could turn more than 40% of the dissolved protein into yeast protein. Cellulosic residue for cellulase production contained 20% of barley protein. of which 30% was dissolved and utilized by fungous mycella to produce cellulase. About 63% of barley protein was remained in the residues of filtration, prehydrolysis, cellulase production and enzymatic hydrolysis, and mixed with yeast to make protein feedstuff after dry. No lose of barley protein was observed in the whole process.

Key words: barley grain residue; cellulase; high protein feeds