(19) 中华人民共和国国家知识产权局





(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101297677 B (45) 授权公告日 2012. 05. 02

- (21)申请号 200810106919.3
- (22)申请日 2008.06.16
- (73) 专利权人 南昌大学地址 330031 江西省南昌市红谷滩新区学府大道 999 号
- (72) 发明人 余勃 陆豫
- (74) 专利代理机构 南昌洪达专利事务所 36111 代理人 刘凌峰
- (51) Int. CI.

A23K 1/14 (2006.01) *A23K* 1/00 (2006.01)

审查员 梁敬臣

权利要求书 1 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

同步混菌发酵法对菜籽粕进行脱毒和菜籽蛋白改性的工艺

(57) 摘要

一种同步混菌发酵法对菜籽粕进行脱毒和菜籽蛋白改性的工艺,其工艺步骤包括:a、菜籽粕原料预处理;b、在原料中加入营养液;c、接入混合菌种;d、多元混菌发酵;e、成品后加工。本发明得到的产品为改性菜籽粕,其原有的硫甙等毒性成分被完全脱除,其菜籽蛋白被水解成具有生物活性更易吸收的寡肽类,是一种质优价廉、营养安全,能替代豆粕、鱼粉等的新型饲料蛋白源。整个工艺过程为零排放、全转化的清洁生产。

1. 一种同步混菌发酵法对菜籽粕进行脱毒和菜籽蛋白改性的工艺,其特征是工艺步骤为:a、菜籽粕混料灭菌预处理,按菜籽粕原料重量的百分比加入5%-10%的麸皮,混匀后经121℃,20min高压灭菌;b、在原料中加入经灭菌的营养液,营养液的成分浓度为,硝酸钠0.1%,磷酸氢二钾0.1%,蔗糖2%,硫酸铵0.5%,将菜籽粕的含水量控制在60%;c、接种复合发酵菌株,所述发酵菌种为白地霉、酵母菌、黑曲霉、米曲霉、枯草芽孢杆菌五种菌复配混合而成,接种量按含有菌种的培养基重量占菜籽粕原料重量的百分比计均为1%,其中白地霉、酵母菌、黑曲霉、米曲霉的培养基为察氏培养基,培养条件为28-30℃,48-54h;枯草芽孢杆菌的培养基为牛肉膏蛋白胨培养基,培养条件为32-35℃,24-36h;d、多元混菌发酵,所述的发酵为固态发酵,菜籽粕在发酵容器内堆积厚度为3-5cm,容器密闭,发酵温度为30±5℃,发酵时间2-3天;e、成品后加工,将发酵好的菜籽粕50-80℃热风干燥,粉碎后包装。

同步混菌发酵法对菜籽粕进行脱毒和菜籽蛋白改性的工艺

技术领域

[0001] 本发明涉及一种发酵法脱除菜籽粕中的毒性物质,同时对菜籽蛋白进行水解改性的工艺,特别涉及一种同步混菌发酵法对菜籽粕进行脱毒和菜籽蛋白改性的工艺

背景技术

油菜籽是我国第一大油料作物,我国每年经制油后所产生的菜籽粕高达600~ [0002] 700 万吨。菜籽粕中含有丰富的菜籽蛋白(37-40% w/w),其蛋白效价为 $3\sim3.5$,比大豆蛋 白还高,是一种优良的蛋白质。因此,菜籽粕作为我国一种价格低廉,来源充足的优质蛋白 资源, 值得大力地开发利用。但开发利用受到两个瓶颈性问题的制约:瓶颈一,菜籽粕有毒。 菜籽粕中含有毒源性成分硫甙(硫代葡萄糖甙,也称芥子甙),其在芥子酶的作用下,会被 分解为异硫氰酸酯、噁唑烷硫酮和腈类等对人畜有害的毒性化合物。瓶颈二,菜籽蛋白直接 消化利用率低。菜籽粕中还混合含有植酸、单宁、芥子碱等抗营养因子,同时由于制油加工 时不脱除皮壳而造成菜籽粕粗纤维含量较高,这些都会造成对菜籽蛋白的直接消化利用率 低,适口性差等问题,严重影响了菜籽粕作为饲料的利用价值。因此,有效消除菜籽粕中的 毒性成分和抗营养因子,充分高效利用菜籽蛋白,使菜籽粕成为廉价易得的优质蛋白新来 源,将会是我国在当前和今后几十年都迫切需要解决的重大课题。菜籽饼脱毒和菜籽蛋白 的高效利用是一个复杂的系统工程,仅用简单的物理或化学方法很难达到预期的效果。如 果仅用单一的微生物菌种难以解决降解菜籽粕粗蛋白和脱毒问题。利用微生物数量大、酶 系复杂的特点进行菜籽饼粕的发酵,不仅可以分解硫甙及其产物脱毒,菜籽饼粕的其它抗 营养因子也能被微生物分解,如植酸、单宁、纤维素等,大大地改善了菜籽饼的口感,提高了 菜籽饼营养成分的利用率。同时,利用微生物蛋白酶系降解菜籽蛋白生成菜籽多肽,可进一 步提高菜籽蛋白的营养价值和功能活性。因此,利用微生物对菜籽饼粕进行发酵,从而达到 脱毒、消除抗营养因子和提高菜籽蛋白利用率的效果,被认为是今后菜籽粕高效开发利用 技术的主要发展趋势。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种同步混菌发酵法对菜籽粕进行脱毒和菜籽蛋白改性的工艺,生产质优价廉、安全营养的新型饲料蛋白源。

[0004] 本发明采用多菌种混合发酵,可在一步发酵过程中利用微生物的复杂酶系,将硫甙及其中间产物彻底分解脱除的同时,将菜籽蛋白部分水解为更易吸收和更具生物活性的寡肽。

[0005] 本发明工艺步骤是:a、菜籽粕混料灭菌预处理,按菜籽粕原料重量的百分比计加入5~10%的麸皮,混匀后经121℃,20min高压灭菌。b、在原料中加入经灭菌的营养液,营养液的成分浓度为,硝酸钠0.1%,磷酸氢二钾0.1%,蔗糖2%,硫酸铵0.5%。将菜籽粕的含水量控制在60%左右。c、接种复合发酵菌株,所述发酵菌种为白地霉,酵母菌,黑曲霉,米曲霉,枯草芽胞杆菌五种菌复配混合而成,其中白地霉,酵母菌,黑曲霉本身能分泌芥

子酶和有关酶系,能够水解复杂多变的硫甙及其中间产物,主要作为脱毒菌株;米曲霉和枯草芽孢杆菌能产丰富的蛋白酶,可将蛋白质部分水解成为更易吸收并具有一定生物活性的寡肽,主要作为菜籽蛋白改性菌种。接种量按含有菌种的培养基重量占菜籽粕原料重量的百分比计均为 1%。d、多元混菌发酵,所述的发酵是固态发酵,菜籽粕在发酵容器内堆积厚度为 $3\sim5$ cm,容器密闭。发酵温度为 30 ± 5 °C,发酵时间 $2\sim3$ 天。e、成品后加工,将发酵好的菜籽粕 $50\sim80$ °C热风干燥,粉碎后包装。

[0006] 本发明的优点是:1、利用微生物数量大、酶系复杂的特点进行菜籽饼粕的发酵,不仅可以分解硫甙及其产物脱毒,菜籽饼粕的其它抗营养因子也能被微生物分解,如植酸、单宁、纤维素等,大大地改善了菜籽饼的口感,提高了菜籽饼营养成分的利用率。2、利用微生物蛋白酶系降解菜籽蛋白生成菜籽多肽,可进一步提高菜籽蛋白的营养价值和功能活性。3、微生物利用自身代谢作用,可以在发酵豆粕过程中产生香味物质或香味的前体物质,作为饲料具有显著的诱食性。

[0007] 具体实施方施

[0008] 操作步骤如下:

[0009] 1、准备菜籽粕原料:菜籽粕原料来源于粮、油食品加工企业,在工业生产中,尽可能对不同批次原料的营养成分和毒性物质进行抽查测定,以便选择合理经济的工艺参数,如硫甙含量高的原料发酵时间应相应延长。菜籽粕混料灭菌预处理,按菜籽粕原料重量的百分比计加入 $5\sim10\%$ 的麸皮,混匀后经 $121\,^{\circ}$ C,20min 高压灭菌。

[0010] 2、在原料中加入经灭菌的营养液,营养液的成分浓度为,硝酸钠 0.1%,磷酸氢二钾 0.1%,蔗糖 2%,硫酸铵 0.5%。营养液与原料混合均匀,原料置于发酵池中,将菜籽粕的含水量控制在 60% 左右。

[0011] 3、接种复合发酵菌株,所述发酵菌种为白地霉,酵母菌,黑曲霉,米曲霉,枯草芽胞杆菌五种菌复配混合而成,其中白地霉,酵母菌,黑曲霉本身能分泌芥子酶和有关酶系,能够水解复杂多变的硫甙及其中间产物,主要作为脱毒菌株;米曲霉和枯草芽孢杆菌能产丰富的蛋白酶,可将蛋白质部分水解成为更易吸收并具有一定生物活性的寡肽,主要作为菜籽蛋白改性菌种。在接入发酵菌种前,各菌种分别进行扩大培养。其中白地霉,酵母菌,黑曲霉,米曲霉的培养基为察氏(Czapek)培养基,培养条件为28-30℃,48~54h;枯草芽孢杆菌的培养基为牛肉膏蛋白胨培养基,培养条件为32-35℃,24~36h。接种量按含有菌种的培养基重量占菜籽粕原料重量的百分比计均为1%。多元混菌发酵,所述的发酵是固态发酵,菜籽粕在发酵容器内堆积厚度为3~5cm,容器密闭。发酵温度为30±5℃,发酵时间2~3天。不通风发酵时,发酵全过程温度自然升降,发酵时间适当长些,当环境温度过高或过低时,因采取通风降温、翻垄或升温保温等相应措施。

[0012] 1、成品后加工,其工艺包括:烘干-粉碎-检验-包装;产品可以是粉状物,也可以制粒。

[0013] 本发明产品利用对人类和动物无致病作用的微生物对菜籽粕进行发酵处理。发酵后,经烘干粉碎即可得到产品,整个工艺过程为全进(原料)全出(产品)式,是零排放、全转化的清洁生产,不存在"三废"排放和环保问题。

[0014] 本发明所用菌种具体描述如下:

[0015]

菌种名称	学名	产酶特性	培养温度	培养基
酿酒酵母	Saccharomyces.cerevisiae	芥子酶	28-30℃	5° Bé 麦芽汁琼脂
白地霉	Geotrichum.candidum	芥子酶	28℃	5° Bé 麦芽汁琼脂
米曲霉	Aspergillus.oryzae	蛋白酶	28℃	5° Bé 麦芽汁琼脂
黑曲霉	Aspergillus. niger	芥子酶	28℃	
枯草芽孢 杆菌	Bacillus.subtiles	蛋白酶	37℃	牛肉膏蛋 白胨

[0016] 按本发明工艺所获得的产品是一种新型饲料蛋白源-脱毒改性菜籽粕,其去除了菜籽粕中原有的毒性成分和抗营养因子,并将菜籽蛋白水解成更具营养价值和生物活性的寡肽。其产品质量指标如下:外观:棕黄色粉末;气味:酒曲香味;粗蛋白含量: $52\pm2\%$;粗纤维含量: $8\pm1\%$;水分: $10\pm1\%$;灰分: $6\pm0.5\%$;硫甙总量: $<1\mu$ mol/g;蛋白氮中酸溶性多肽氮所占比例: $65\pm5\%$

[0017] 营养实验

[0018] 1、目的:验证不同比例的本发明产品替代豆粕后,对雏鸡的生长性能是否有影响,以及替代豆粕的可能性和合适比例。

[0019] 2、材料与方法

[0020] 2.1 试验动物与分组设计试验选用 224 羽平均体重为 37.5±0.33 kg 的 1 日龄健康爱拨益加 (Arbor Acres, AA) 肉雏鸡,按完全随机区组设计分为 4 个处理,每个处理 4 重复,每个重复 14 羽鸡。公母混养。

[0021] 2.2 发酵菜粕。由实验一的方法制备的发酵菜粕。

[0022] 2.3 试验日粮试验日粮参照 NRC(1998) 推荐的营养标准配制。以玉米 - 豆粕(菜粕)日粮为基础。

[0023] 处理 I:玉米 - 豆粕日粮组(对照组);

[0024] 处理 II: 在对照组日粮基础上用 5%的发酵菜粕代替部分豆粕;

[0025] 处理 III:在对照组日粮基础上用 10%的发酵菜粕代替部分豆粕;

[0026] 处理 IV:在对照组日粮基础上用 15%的发酵菜粕代替部分豆粕。

[0027] 各试验组日粮配方见表 1(前期)和表 2(后期)。

[0028] 表 1 肉鸡前期 Starter (d1-21) 试验日粮组成及营养水平(饲喂基础)

[0029]

	处理 I	<u></u> 处理Ⅱ		
原料 Ingredients (%)				
玉米 Corn (8.9% CP)	52.20	53. 55	55. 70	58.05
豆粕 Soybean meal (43.0%	39.40	33.00	26.35	19.60
CP)				
发酵菜粕		5.00	10.00	15.00
DL-蛋氨酸 DL-methionine		0.10	0.10	0.10
L-赖氨酸 L-lysine.HCl		-	0.05	0.10
石粉 Limestone	1.10	1.10	1.00	1.00
磷酸氢钙 Dicalcium	2.20	2.50	2.60	2.50
phosphate				
食盐 Salt	0.30	0.30	0.30	0.30
豆油 Soybean oil	3.60	3.35	2.90	2. 35
氯 化 胆 碱 Choline	0.10	0.10	0.10	0.10
chloride (50%)¹				
预混料 Premix ²	1.00	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养成分计算值 Analyzed				
composition (%)				
干物质 DM				
代谢能 ME (kcal/kg)	3015.80	3015.90	3016.50	3016.30
粗蛋白 CP	21.60	21.64	21.64	21.62
蛋氨酸 Methionine	0.61	0.61	0.62	0.62
蛋氨酸 + 胱氨酸	1.00	1.00	1.01	1.02
Methionine + Cystine				
赖氨酸 Lysine	1.26	1.21	1.21	1. 20
苏氨酸 Thr	0.91	0.88	0.85	0.82
钙 Ca	1.02	1.10	1.10	1.09
总磷 TP	0.76	0.83	0.86	0.86
有效磷 AP	0.50	0.55	0.57	0.55

[0030] ¹ 氯化胆碱单独添加,添加量为 0.5 g/kg。

[0031] ²为每千克日粮提供:维生素 A,19,000 IU;维生素 D₃,5,200 IU;维生素 E,38 IU;维生素 B₁₂,0.022 mg;维生素 B₆,5.6 mg;维生素 K₃,3.8mg;核黄素,11.4mg;维生素 B₁,2.8mg;D-泛酸,22.8mg;烟酸,38mg;生物素,0.15mg;叶酸,0.56mg;锰,140mg;铁,162mg;铜,20mg;碘,1.2mg;锌,140mg;硒,0.6mg。

[0032] 表 2 肉鸡后期 (d 22-42) 试验日粮组成及营养水平(饲喂基础) [0033]

	处理 I	处理 II	处理Ⅲ	处理N
原料 Ingredients (%)				
玉米 Corn (8.9% CP)	57.60	58.75	61.35	63.55
豆粕 Soybean meal (43.0%	33. 50	27.05	20.30	13.60
CP)				
发酵菜粕		5. 00	10.00	15.00
DL-蛋氨酸 DL-methionine				
L-赖氨酸 L-lysine.HCl		0.05	0.10	0.15
石粉 Limestone	1.00	1.00	1.00	0.90
磷酸氢钙 Dicalcium	2. 10	2. 50	2. 25	2.30
phosphate				
食盐 Salt	0.30	0.30	0.30	0.30
豆油 Soybean oil	4. 50	4.35	3.70	3. 20
氯 化 胆 碱 Choline	0.10	0.10	0.10	0.10
chloride (50%)¹				
预混料 Premix ²	1.00	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养成分分析值 Analyzed				
composition (%)				
干物质 DM	*			
代谢能 ME (kcal/kg)	3125.00	3125. 50	3125.30	3125.60
粗蛋白 CP	19.53	19.54	19. 54	19. 53
蛋氨酸 Methionine	0.49	0.49	0.49	0.49
蛋氨酸 + 胱氨酸	0.89	0.95	0.85	0.86
Methionine + Cystine				
赖氨酸 Lysine	1.11	1.11	1.10	1.09
苏氨酸 Thr	0.83	0.80	0.77	0.74
钙 Ca	0.95	1.05	1.01	1.00
总磷 TP	0.73	0.81	0.78	0.80
有效磷 AP	0.48	0. 54	0. 50	0. 50

^{[0034] &}lt;sup>1</sup> 氯化胆碱单独添加,添加量为 0.5 g/kg。

^{[0035] &}lt;sup>2</sup>为每千克日粮提供:维生素 A,19,000 IU;维生素 D₃,5,200 IU;维生素 E,38 IU;维生素 B₁₂,0.022 mg;维生素 B₆,5.6 mg;维生素 K₃,3.8 mg;核黄素,11.4 mg;维生素 B₁,2.8 mg;D-泛酸,22.8 mg;烟酸,38 mg;生物素,0.15 mg;叶酸,0.56 mg;锰,140 mg;铁,162 mg;铜,20 mg;碘,1.2 mg;锌,140 mg;硒,0.6 mg。