

一株优良酿酒酵母 S2.101 的最适生长条件研究

任道群¹, 唐玉明¹, 姚万春¹, 廖建明¹, 郑翔京²

(1 四川省泸州市酿酒科学研究所, 四川 泸州 646100; 2 四川省泸州市农业局, 四川 泸州 646000)

摘要: 对酿酒酵母 S2.101 的最适生长条件进行了研究, 结果表明, S2.101 对高粱、小麦糖化液的发酵力强, 对玉米、大米糖化液也有较强的发酵作用, 在液体酵母合成培养基中加入 50% 的麸皮培养基能促进 S2.101 的生长; S2.101 的最适生长时间为 28 h, 最适生长温度为 30℃, 最适生长 pH 值为 6.0。

关键词: 微生物; 酿酒酵母; 生长条件

中图分类号: Q93-3; TS261.1; TQ925.7 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2007)09-0032-03

Research on the Optimum Growth Conditions of *Saccharomyces Cerevisiae* Strain S2.101

REN Dao-qun¹, TANG Yu-ming¹, YAO Wan-chun¹, LIAO Jian-ming¹ and ZHENG Xiang-jing²

(1 Luzhou Liquor-making Science Research Institute., Sichuan 646100; 2 Luzhou Agriculture Bureau, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: The optimum growth conditions of *saccharomyces cerevisiae* strain S2.101 were studied. The results showed that S2.101 presented the strongest fermenting power in sorghum saccharifying solution and wheat saccharifying solution and it also presented strong fermenting power in corn saccharifying solution and rice saccharifying solution, the addition of 50% bran in liquid yeast synthesis culture medium could advance the growth of S2.101, the optimum growth time of S2.101 was 28 h, the optimum growth temperature of S2.101 was at 30℃, and the optimum growth pH of S2.101 was 6.0.

Key words: microbes; *saccharomyces cerevisiae*; growth condition

S2.101 是采用系统选育和诱变选育相结合的二步选育法选育出的优良酿酒酵母菌株, 因其具有生长速度快、发酵力强以及符合白酒窖内低温缓慢发酵的特点, 为了更好地将该菌株应用于白酒生产, 我们对其最适生长条件和对酿酒主要原料的适应性进行了研究, 现将研究结果报告于后。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株

菌株来源于本所选育的 S2.101 优良酿酒酵母。

1.1.2 培养基

1.1.2.1 液体酵母合成培养基

蛋白胨 10 g, 葡萄糖 10 g, 酵母浸膏 7.5 g, KH_2PO_4 3 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 自然。

斜面培养基: 在液体酵母合成培养基中加入 2% 的

琼脂。

1.1.2.2 麸皮培养基

麸皮水 = 1:10, 煮沸 30 min, 过滤, pH 自然。

1.1.2.3 混合培养基

在液体酵母合成培养基中加入一定比例的麸皮培养基。

1.1.2.4 发酵力培养基^[3]

高粱或(玉米、小麦、大米)水 = 1:4, 煮 1~2 h, 呈糊状, 按 50 μg 淀粉的量加入糖化酶, 补加 60℃ 温水 1 份, 搅拌均匀, 60℃ 糖化 3~4 h, 用细纱布过滤, 使最终糖化液的糖度为 10 Brix, 吸取 50 mL 糖化液于 150 mL 三角瓶中, 0.1 MPa 灭菌 30 min 后备用。

1.2 试验方法

1.2.1 发酵力测定方法^[3]

在斜面培养基上接种供试菌种, 放入 30℃ 的恒温培养箱中培养 48 h 制成斜面种子, 然后挑取一环菌种

收稿日期: 2007-07-25

作者简介: 任道群 (1965-), 女, 四川泸州人, 大学, 副研究员, 长期从事工业微生物和生物技术研究, 获部、省科技成果奖 5 项, 发表研究论文 40 余篇。

于装有 50 mL 糖化液并带发酵栓的发酵瓶中,置于温度为 30 的培养箱中培养,每培养 24 h 称重一次,以生成 CO₂ 量的多少来衡量发酵力强弱。

1.2.2 发酵液糖度测定

用手持糖度计或波美计测定。

1.2.3 菌株母液的制备^[1]

在斜面培养基上接种供试菌种,放入 30 的恒温培养箱中培养 48 h 制成斜面种子,然后挑取 1 环菌种于装有 20 mL 液体酵母合成培养基的 100 mL 三角瓶中,置于温度为 30,转速为 200 r/min 的恒温振荡培养箱中培养 48 h。

1.2.4 不同的混合培养基对菌株生长的影响

取 0.5 mL 菌株母液于装有 20 mL 的混合培养基(在液体酵母合成培养基中,分别加入 0%、30%、50%、80%、100% 的麸皮培养基共 5 个处理)中,置于温度为 30、转速为 200 r/min 的恒温振荡箱中培养 24 h,然后采用稀释平板计数法测定菌落个数。

1.2.5 培养时间对菌株生长的影响^[1-2]

各取 0.5 mL 菌株母液于 2 个装有 20 mL 液体酵母合成培养基的 100 mL 三角瓶中,1 个三角瓶置于温度为 30、转速为 200 r/min 的恒温振荡箱中培养,另一个置于温度为 30 的恒温培养箱中静止培养,每隔 2 h 分别取出 0.5 mL 菌液,以液体酵母合成培养基作空白对照,用分光光度计在 660 nm 处测定酵母液的吸光度。

1.2.6 温度对菌株生长的影响^[1]

取 0.5 mL 菌株母液于装有 20 mL 液体酵母合成培养基的 100 mL 三角瓶中,分别置于 26、28、30、32、34 和 36 共 6 个温度梯度,转速为 200 r/min 的恒温振荡箱中培养 28 h,以液体酵母合成培养基作空白对照,用分光光度计测定 660 nm 处的吸光度。

1.2.7 pH 值对菌株生长的影响^[1-2]

将液体酵母合成培养基分别用 1 mol/L 的 NaOH 和 1 mol/L 的 HCl 调为 pH 4、pH 5、pH 6、pH 7、pH 8、pH 9 共 6 个 pH 梯度,取 0.5 mL 菌株母液于装有 20 mL 已调整好 pH 值的液体酵母合成培养基的 100 mL 三角瓶中,放入温度为 30,转速为 200 r/min 的恒温振荡箱中培养 28 h,以液体酵母合成培养基作空白对照,用分光光度计测定 660 nm 处的吸光度。

2 结果与分析

2.1 S2.101 对不同原料的糖化液的适应性

S2.101 在不同糖化液中的发酵力测定结果见表 1。

由表 1 可看出,酿酒酵母 S2.101 对高粱和小麦糖化液具有很强的发酵力,发酵 7 d 时其发酵力分别为 3.179 g/50 mL 和 3.034 g/50 mL;对玉米和大米糖化液

表 1 S2.101 在不同糖化液中的发酵力 (g/50mL)

糖化液	发酵时间(d)						
	1	2	3	4	5	6	7
玉米	0.137	0.657	1.178	1.512	1.870	2.274	2.703
高粱	0.235	0.922	1.816	2.419	3.063	3.156	3.179
小麦	0.290	0.896	1.665	2.173	2.746	3.008	3.034
大米	0.157	0.672	1.183	1.526	1.897	2.326	2.763

也有较强的发酵力,其发酵力分别为 2.703 g/50 mL 和 2.763 g/50 mL,并且对 4 种主要酿酒原料的糖化液,其发酵力均是随着发酵时间的延长而逐渐增加。

2.2 S2.101 在高粱糖化液中发酵的糖度测定

S2.101 在高粱糖化液中发酵过程的糖化液糖度变化结果见表 2。

表 2 S2.101 在高粱糖化液中发酵过程糖化液糖度的变化

项目	发酵时间(d)					
	0	3	4	5	6	7
发酵力(g/50 mL)	0	1.816	2.419	3.063	3.156	3.179
发酵液糖度(%)	17	13.5	12	10.8	9.2	7.0

由表 2 可看出,随着发酵时间的延长,发酵液的重量和发酵液的糖度都逐渐降低,S2.101 酵母在糖化液中的发酵不是在 3 d 后就结束了,而是在 0~7 d 内,其糖化液的糖度由 17% 下降为 7%。由表 1、表 2 可以看出,S2.101 不失为一株适合白酒窖内缓慢发酵和适应性广的优良酿酒酵母菌株。

2.3 不同的混合培养基对 S2.101 生长的影响

不同的混合培养基对 S2.101 的生长影响结果见表 3。

表 3 不同的混合培养基对 S2.101 生长的影响

培养基成分			酵母个数 (个/mL)
液体酵母合成培养基 (mL)	麸皮固体培养基 (mL)	麸皮培 养基比例 (%)	
20	0	0	4.03×10 ⁹
14	6	30	5.39×10 ⁹
10	10	50	6.97×10 ⁹
4	16	80	3.54×10 ⁹
0	20	100	2.23×10 ⁹

由于麸皮含有丰富的微生物所需营养成分,为了降低培养酵母菌液的成本,我们利用混合培养基来培养酵母菌液,由表 3 可看出,在液体酵母合成培养基中加入 50% 的麸皮培养基制成的混合培养基较用纯液体酵母合成培养基培养的酵母菌液,其酵母菌数量高 72.95%,由此看出利用麸皮培养基代替部分液体酵母合成培养基培养酵母菌液,不仅能够降低培养酵母菌液成本,而且还能促进酵母菌的生长。

2.4 培养时间对 S2.101 生长的影响

在不同的培养时间内,S2.101 的生长情况见图 1。

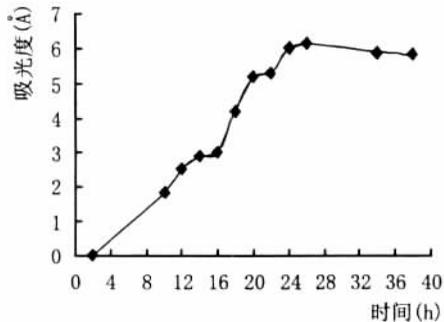


图1 不同的培养时间下菌株 S2.101 的生长情况

由图1可看出,在培养时间为0~28 h内,随着培养时间的延长,菌体密度逐渐增大,当培养时间为28 h时,菌株密度达到最大值,吸光度达到6.30;在28~38 h内菌体密度随培养时间的延长而逐渐降低,但下降幅度不大,吸光度仅下降了0.45,这表明,S2.101菌株最适宜的培养时间为28 h。

2.5 温度对 S2.101 生长的影响(图2)

温度的高低影响微生物的生长、繁殖和新陈代谢,过高的温度会导致蛋白质或核酸的变性失活,而过低的温度会使酶活力受到抑制,细胞的新陈代谢活力减弱^[4]。

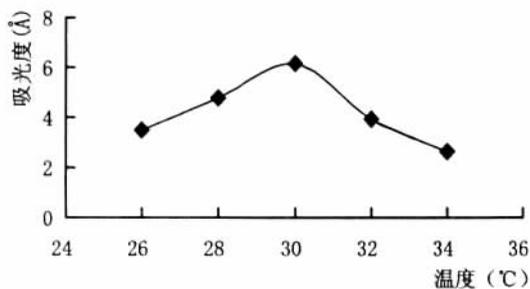


图2 温度对菌株 S2.101 生长的影响

由图2可看出,温度在26~30 °C内,随着培养温度的升高,菌体密度逐渐增大,当温度为30 °C时,菌体密度达到最大值,温度超过30 °C后,随着温度的升高菌体密度逐渐降低。表明适宜的温度有利于菌株的生长,S2.101酵母菌株的最适生长温度为30 °C。

2.6 pH 值对 S2.101 生长的影响

pH 值对菌株 S2.101 生长的影响结果见图3。

最适生长 pH 值是指细胞在最高生长率所需的 pH 值,在此 pH 值下能获得最大的细胞量,并且细胞生长过程中所需的有关酶的活性也最高。由图3可看出,菌株在 pH 值为4.0~9.0之间均能生长,在 pH 值为

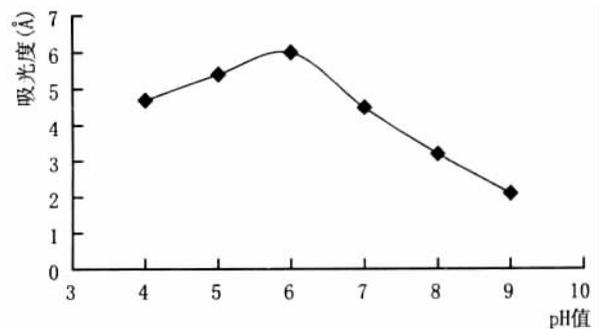


图3 pH 值对菌株 S2.101 生长的影响

4.0~6.0之间均能较好地生长,当 pH 值为6.0时,菌体密度达到最大值,pH 值大于6.0时对菌株生长有较强的抑制作用,由此得出,菌株 S2.101 生长最适宜的 pH 值为6.0。

3 结论与讨论

3.1 实验证明,S2.101酿酒酵母对高粱和小麦糖化液的发酵力最强,发酵7 d时,发酵力分别为3.179 g/50 mL和3.034 g/50 mL,对玉米和大米糖化液也有较强的发酵力,7 d的发酵力分别为2.703 g/50 mL和2.763 g/50 mL,并且对4种主要酿酒原料的糖化液,其发酵力均是随着发酵时间的延长而逐渐增加,发酵液糖度随发酵时间的延长而逐渐降低,因此S2.101不失为一株适合白酒窖内缓慢发酵和适应性广的优良酿酒酵母菌株。

3.2 在液体酵母合成培养基中加入50%的麸皮培养基制成的混合培养基,不仅有利于酵母菌的生长,而且能够大大地降低培养酵母菌液的成本。

3.3 S2.101优良酵母菌株的最佳生长时间为28 h,最适生长温度为30 °C,最适生长 pH 值为6.0。

3.4 通过对S2.101优良酿酒酵母菌株的最适生长条件研究,为S2.101酵母菌液的生产和在酿酒生产上的推广应用提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 任道群,唐玉明,姚万春,等.高蛋白酵母菌株 S4.107 生长特性研究[J].酿酒,2006,(5):50-52.
- [2] 方敦煌,赵玉虎,沐应祥,等.拮抗菌株 GP13 的基本生物学特性研究[J].西南农业大学学报,2002,(5):406-408.
- [3] 王福荣.酿酒分析与检测[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [4] 杜连祥,路福平.微生物学实验技术[M].北京:中国轻工业出版社,2005.

(上接第31页)

业出版社,2006.

[7] 章银良.食品检验教程[M].北京:化学工业出版社,2006.

[8] 李剑芳,张灏.发酵猕猴桃汁中产香酵母的分离、鉴定及生长

特性的研究[J].食品科学,2001,9(22):19-23.

[9] 颜子颖,王海林译.精编分子生物学实验指南[M].北京:科学出版社,1998.