

毕赤酵母菌变异株发酵特性的研究

牟建楼,王 颀,张 伟,陈志周,袁 丽

(河北农业大学食品科技学院,河北 保定 071001)

摘 要: 以树干毕赤酵母的突变株 M 为出发菌株,对其进行了发酵条件包括发酵的摇床转速、温度、pH 的研究。结果表明,M 菌株发酵的适宜摇床转速为 90 r/min,适宜发酵温度为 28℃,发酵的适宜 pH 为 5.0。

关键词: 微生物; 树干毕赤酵母; 木糖; 酒精

中图分类号:TS262.2; TS261.1; TQ92 文献标识码:A 文章编号:1001- 9286(2006)05- 0033- 03

Study on Fermenting Characteristics of Mutant M of *Pichia stipitis*

MU Jian-lou, WANG Jie and ZHANG Wei et al.

(Food Science & Technology College of Hebei Agriculture University, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: Mutant M of *Pichia stipitis* was used as starting strain and its fermenting characteristics including fermentation temperature, pH, rotating rate and its effects on fermentation curve were studied. The experiment results indicated that the optimal conditions for M fermentation was temperature at 28℃, pH value as 5.0, and rotating rate at 90 r/min. (Tran. by YUE Yang)

Key words: microbe; *Pichia stipitis*; xylose; ethanol

随着不可再生资源石油贮量的减少以及油价的不断上涨,乙醇作为无污染的生物质能源,具有巨大的潜在市场。各类农作物纤维是地球上最丰富、最廉价的可再生资源。近年来利用农作物纤维资源发酵生产燃料乙醇正逐步成为研究热点。利用秸秆生产乙醇,不仅规模大、利用率高,而且可以变废为宝,保护环境,并缓解日益紧张的能源危机。秸秆的有机成分以纤维素、半纤维素为主^[1,2]。木糖是植物纤维原料中半纤维素戊糖的主要成分^[3],在自然界中的丰富程度仅次于葡萄糖。有效利用木糖和其他半纤维素单糖是植物纤维原料发酵生成乙醇的关键。一些酵母菌能够发酵木糖,但酒精产率低。本文以树干毕赤酵母的突变菌株 M 为出发菌,对其进行了发酵条件的研究。

1 材料与方法

1.1 菌种

菌株 M,树干毕赤酵母(*Pichia stipitis*)的变异株,能在以木糖为唯一碳源的培养基上生长,并能发酵木糖产乙醇,本实验室保存。

1.2 培养基

YPX 液体培养基:蛋白胨 2.0%,木糖 2.0%,酵母

浸膏 1.0%。

YPX 固体培养基:蛋白胨 2.0%,木糖 2.0%,酵母浸膏 1.0%,琼脂 2.0%。

发酵培养基:木糖 2.0%,酵母膏 1.0%。

1.3 试验方法

1.3.1 摇床转速对发酵木糖产乙醇的影响

将活化的 M 接入发酵培养基,在不同摇床转速下 28℃ 恒温发酵,48 h 后,测定乙醇浓度、菌体浓度。比较不同条件下菌株发酵木糖的情况。

1.3.2 温度对发酵的影响

将活化的 M 接入发酵培养基中,分别在不同的发酵温度下培养,摇床转速 90 r/min,48 h 后,测定乙醇浓度、残糖、生物量。比较不同温度下菌株发酵木糖的情况。

1.3.3 pH 对发酵的影响

将活化的 M 接入不同 pH 值的发酵培养基,发酵温度为 28℃,摇床转速 90 r/min,培养 48 h 后,测定乙醇浓度、残糖、生物量、终 pH。比较不同条件下菌株发酵木糖的情况。

1.4 分析方法

收稿日期:2006-03-06

作者简介:牟建楼(1973-),女,河北保定人,助教,硕士,主要从事农产品贮藏及加工研究。

乙醇测定: 气相色谱法^[4]。

2 结果与讨论

2.1 摇床转速对发酵的影响 见图 1)

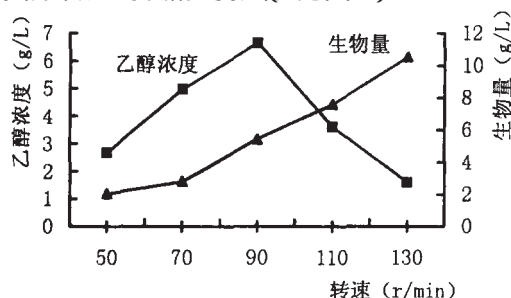


图1 摇床转速对木糖发酵的影响

从图1可知, 摇床速度对乙醇浓度有显著的影响, 转速为130 r/min时, 其发酵力和最终乙醇浓度都是最低的; 转速为90 r/min时, 乙醇浓度和发酵力最高, 乙醇浓度为6.67 g/L, 因此适宜转速是90 r/min。另外, 发酵过程中的生物量随着摇床转速的增大而增加。

溶解氧是木糖发酵的一个重要参数, 合适的供氧对酵母菌的木糖发酵十分重要^[5,6]。在发酵瓶容量一定、装液相同的条件下, 摇床速度与液体内的溶解氧浓度密切相关。一定的转速可提供该酵母发酵所需的氧, 转速过高过低都不利于酵母产乙醇。转速过高, 增加了发酵液的溶氧量, 木糖流向有氧代谢, 产生大量的菌体, 发酵则受到抑制, 因此产生的乙醇量减少。低速摇床条件供给细胞的溶解氧不足, 菌体的生长量低, 影响了酵母发酵的能力。

本试验通过改变摇床转速来控制供氧量, 最终确定了M发酵的适宜摇床转速为90 r/min。试验结果表明, 戊糖发酵中需要一定的氧气供给, 即需要微耗氧条件, 这与戊糖发酵生产燃料乙醇的微生物代谢途径是吻合的。这种条件与传统的己糖发酵生产燃料乙醇的厌氧条件不同。实际生产中可以通过在发酵罐中进行搅拌或直接向发酵罐中通入无菌空气来控制供氧量。

2.2 温度对发酵的影响 见图 2)

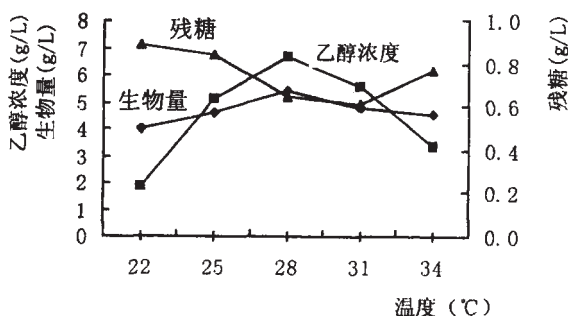


图2 温度对木糖发酵的影响

由图2可知, 随着发酵温度的逐渐升高, 产物乙醇

浓度逐渐增大, 当温度升高到28℃时, 乙醇浓度最大为6.67 g/L, 说明在此温度下, 酵母的发酵能力较强; 当温度继续升高时, 乙醇浓度逐渐降低。

图2还表明, 在温度为22~34℃范围内, 随温度的升高, 酵母增值速度提高, 当温度达到28℃时, 生物量达到较大值, 随着温度的继续升高, 增值速度又降低。这表明低温和高温都能抑制酵母的生长, 导致酵母新陈代谢速度低, 增值速度低。

酵母菌发酵木糖的适宜温度在30~32℃之间, 但适宜的发酵温度与各菌株的性能、底物浓度均有关。休哈塔假丝酵母 CBS2779 和树干毕赤酵母 CBS7126 的适宜生长速率和发酵速率最适在30℃, 提高发酵温度, 乙醇的产率显著降低, 木糖醇产率增高。相比而言, 嗜鞣管囊酵母发酵木糖在30~37℃范围内, 随着温度的增加, 木糖醇的产率显著降低, 而对乙醇的产率则几乎没有影响^[7]。温度不仅影响木糖发酵的乙醇产率, 同时影响酵母菌株的乙醇耐受能力。如休哈塔假丝酵母 CBS2779 和树干毕赤酵母 CBS7126 在11~22℃的范围内乙醇耐受能力达到最高^[8]。

综合考虑各温度下乙醇的浓度、生物量和残糖的多少, 确定M菌株发酵的适宜温度为28℃。

2.3 初始 pH 对发酵的影响 见图 3)

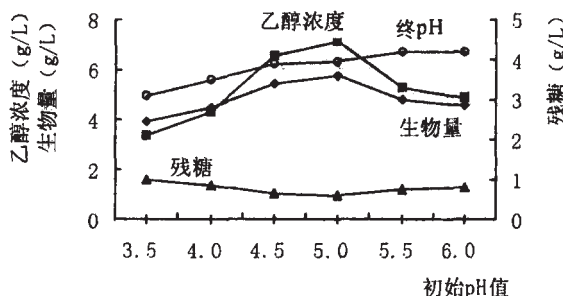


图3 初始 pH 对木糖发酵的影响

本试验选择的初始 pH 范围为3.5~6.0。图3表明, pH 为5.0时, 乙醇浓度最大, 在 pH 为3.5时, 乙醇浓度最小, 原因是在 pH 3.5 条件下, 酵母菌生长受到抑制, 所以发酵缓慢。同时从图3中还可以看出, 在发酵结束时, 发酵液中的 pH 都有所下降, 这是因为发酵过程中产生的二氧化碳溶解于发酵液中, 同时有一些酸性发酵副产物生成。

显微镜下观察酵母形态, 发现 pH 大于3.5时酵母差别很小, 呈圆形或椭圆形, 大小比较均匀, 出芽率高, 表现为多端出芽或一端出芽, 有假菌丝, 细胞繁殖速度快。当 pH 为3.5时, 出芽率有所降低, 多数为一端出芽, 但大部分酵母仍然比较健壮。

pH 值对酵母的生命活动影响显著, 氢离子能改变

细胞原生质膜胶体的电荷,随着氢离子浓度的变化,原生质膜对某些物质和离子的通透性发生变化,这样会影响细胞对营养物质的吸收和利用,另外氢离子浓度对维持酶的活性和维生素的生成也有密切关系。pH 值在 2.0~8.0 的范围内,酵母菌都能保持生命活动,但大部分酵母生长的最适 pH 值在 4.5~5.0。Du Preez^[9]等报道休哈塔假丝酵母生长的最适 pH 值为 3.5~4.5。当 pH 值在 2.5~6.5 之间变化时,休哈塔假丝酵母 CBS2779 和树干毕赤酵母 CBS7126 的木糖发酵的乙醇产率变化很大,两者发酵的最佳 pH 在 4.5~5.5 之间。树干毕赤酵母 5773 的发酵 pH 值范围较为广泛。

本试验通过对 M 进行发酵特性的研究,确定它的适宜初始发酵 pH 为 5.0。

3 结 论

以纤维素类物质为原料生产燃料乙醇,不仅可以节约粮食,而且对环境保护来讲也是一大贡献。木糖是纤维素类物质的水解液中含仅次于葡萄糖的单糖组分,将木质纤维素原料中的木糖转化为乙醇,依赖高效的木糖发酵菌株可生产燃料乙醇。本研究为进一步的菌株改良工作奠定了一定的基础,为利用木质纤维素原

料生产燃料乙醇提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 黄忠干.农作物秸秆资源的综合利用[J]. 资源开发与市场, 1999, 15(1): 32- 34.
- [2] 胡代泽.我国农作物秸秆资源的利用现状与前景[J]. 资源开发与市场, 2000, 16(1): 19- 20.
- [3] Iadisch M R, Lin K W, Voloch M, et al. Process consideration in the enzymatic hydrolysis of biomass [J]. Enzyme Microb Technol, 1983, 5: 82- 100.
- [4] GB/T 15038-94, 葡萄酒、果酒通用试验方法[S].
- [5] Du Preez J C. Process parameters and environmental factors affecting D-xylose fermentation by yeasts[J]. Enzyme Microb Technol, 1994, 16(11): 944- 956.
- [6] 钟桂芳,傅秀辉,孙君社,等. 发酵木糖生产乙醇的研究进展及其应用前景[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(1): 42- 45.
- [7] Du Preez J C, Kock J L, Monteiro. The vitamin requirements of the Candida shehatae for xylose fermentation[J]. Microbiol Lett, 1985, 28: 271- 275.
- [8] Du Preez J C, Monteiro A. The effect of aeration on D-xylose fermentation by Candida shehatae and Pachysolen tannophilus [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1984, 19: 261- 266.

中国酿酒工业协会白酒分会第三届会员代表大会暨三届一次理事会(扩大)会议在京召开

本刊讯:中国酿酒工业协会白酒分会第三届会员代表大会暨三届一次理事会(扩大)会议于 2006 年 3 月 25 日在北京国际会议中心举行,会议由中国酿酒工业协会副理事长熊正河主持,主要议题:讨论理事长工作报告;理事单位、常务理事单位换届。



白酒分会换届大会

8472 家,从业人员 93.84 万人,年生产能力达到 1316 万千升。开展了全国白酒普查工作和品酒技能比赛等。并提出了 2006 年的工作思路。

王延才理事长对白酒分会第三届组织机构的组成和推荐名单进行了说明,经过大会酝酿讨论,大会通过了第三届理事会的理事和常务理事单位名单,其中,理事单位 139 个,比上届增加 4 个,其中 112 个为中国酿酒工业协会理事单位,常务理事单位 75 个,比上届增加 20 个,有 65 个单位为中国酿酒工业协会常务理事单位。

王延才当选为新一届理事长,梁邦昌、栗永清、季克良、陈林、徐占成、韩建书、喻德鱼、姜祖模、陈吉福、熊玉亮、何钊、季家宏当选为副理事长,赵建华当选为秘书长。本届理事会增设了顾问组,由著名白酒专家沈怡方、高月明、高景炎担任顾问。

会议完成各项议题,圆满结束。(小雨)

王延才理事长向大会做了“中国酿酒工业协会白酒分会 2005 年工作报告”,对 2005 年全国白酒行业的发展形势进行了分析,指出 2005 年规模以上白酒企业产量 349.34 万千升,同比增长 15%,实现销售收入 722.65 亿元,同比增长 22.34%,实现税金总额 117.58 亿元,同比增长 17.62%,利润总额 73.19 亿元,同比增长 25.69%。骨干企业主导白酒行业,品牌效益突出,前 50 名企业的销售收入达到 472.76 亿元,占行业的 65.42%,税金总额 84.50 亿元,占行业 71.87%,利润总额 67.63 亿元,占行业的 92.40%。王理事长对白酒分会的工作作了全面总结,30 个省市自治区进行了品酒师“培训考核工作”,2271 人参加了培训,210 人取得品酒员资格证书,1404 人取得品酒师资格证书,291 人取得高级品酒师资格证书。截止 2005 年,全国白酒获证企业



白酒分会理事长王延才做报告