

文章编号: 1009-038X(1999)04-0016-04

同化淀粉能力强的酵母菌 Y-9601株 生物学特征鉴定及其应用

赵建国, 时彦

(无锡轻工大学生物工程学院, 江苏无锡 214036)

摘要: 对从土壤中筛选到的酵母菌 Y-9601株进行了形态培养特征及生理生长特性的研究. 该菌株以多边芽殖方式进行无性繁殖, 形成子囊孢子. 在无维生素培养基上不生长. 同化和发酵葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、1/3棉子糖, 不同化乳糖及硝酸钾. 同化淀粉、纤维二糖及D-木糖能力强, 对淀粉具有较强的酒精发酵能力, 鉴定为酵母属糖化酵母种. 其最适生长温度为 30~34℃, 最适生长 pH值为 5.0~6.0, 在麦芽汁中液体培养倍增时间为 90 min.

关键词: 糖化酵母菌; 同化; 发酵; 淀粉; 玉米淀粉渣

中图分类号: TQ926.3

文献标识码: A

玉米淀粉渣是淀粉工业的主要废弃物, 据不完全统计, 全国每年约产生 76万 t^[1]. 玉米淀粉渣蛋白质量分数低, 仅占干物质的 8%~11%, 残余淀粉质量分数却较高, 约占干物质的 25%~40%. 作者以玉米淀粉渣和豆粕为原料, 采用从土样中筛到的同化淀粉能力强的酵母菌 Y-9601株为试验菌株, 进行固态发酵及富集蛋白的研究, 每克发酵干物质细胞数达到 74.5亿, 产品蛋白质达 38.2% (据资料报道^[1,2], 目前国内固态发酵玉米淀粉渣每克发酵干物质细胞数为 30~40亿), 与发酵物原来的粗蛋白 25.5% 相比, 增加了 12.7%, 增幅 49.8%.

迄今, 国内对同化淀粉酵母菌的报道较少^[3], 从国外引进的糖化酵母菌由于同化淀粉能力较弱, 未能在生产中应用. 作者对从土样中筛到的同化淀粉能力强的酵母菌 Y-9601株的形态培养特征、生理生长特性及应用试验进行了研究, 并作了初步鉴定.

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌种 Y-9601株, 从土样中筛选分离到的野生株.

1.1.2 材料 玉米淀粉渣 山东省莒南市阳谷淀粉实业总公司提供; 豆饼粉, 辅料 外购.

收稿日期: 1999-05-10; 修订日期: 1999-10-15

基金项目: 江苏省环保资助项目 (编号 98007)

作者简介: 赵建国 (1941年 1月生), 男, 上海崇明人, 副教授.

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定 参照文献 [4, 5 提供的方法进行.

1.2.2 固态发酵 玉米淀粉渣固态发酵优化培养基 50 g 装于 500 mL 的三角瓶中,灭菌冷却后接入种龄 18~ 20 h 的种子液,控制培养基初始水分 60% ~ 65% , pH 5. 0-6. 0,接种量 2×10^{10} (按每 100 g 培养基计), 30℃ ,发酵 36 h, 60℃ .烘干供分析测定用.

1.2.3 酵母菌体浓度测定 血球计数法,参照陕西省地方标准^[6].

1.2.4 粗蛋白测定 按国家标准测定^[7].

2 结果与讨论

2.1 菌株 Y-9601的形态与培养特征

菌株 Y-9601的形态、培养特征研究结果见表 1.

表 1 菌株 Y-9601的形态与培养特征

繁殖方式	麦芽汁 25℃培养 3 d			麦芽汁琼脂斜面 25℃培养		NaAc 培养基 25℃倒置培养 14 d
	细胞形态	细胞大小	培养特征	3 d培养特征	30 d培养特征	培养特征
多边出芽	圆形、椭圆	2. 6~ 6. 6	管底沉淀	菌落 4~ 6 mm,	菌落 13~ 15 mm, 中央隆起,边缘波状	形成子囊孢子,孢子球形,表面光滑,4个居多
	圆形、单个或成对	$\mu m \times 3. 3 \sim 6. 6 \mu m$	紧密、无菌环、无菌膜	乳白色,松软湿润,表面光滑,边缘整齐,不透明		

2.2 菌株 Y-9601的生理生化特征

2.2.1 菌株 Y-9601对碳源的同化 菌株 Y-9601对碳源的同化特征见表 2.采用生长谱法对淀粉、纤维二糖、木糖等 7种碳源的同化能力进行了比较试验.结果见表 3

表 2 菌株 Y-9601对碳源的同化

碳源	同化性	碳源	同化性	碳源	同化性	碳源	同化性
葡萄糖	+	棉子糖	1/3+	D-核糖	-	赤藓糖醇	-
半乳糖	+	松三糖	-	L-鼠李糖	-	卫矛醇	-
L-山梨糖	-	密二糖	-	乙醇	+	阿东醇	-
麦芽糖	+	菊糖	+	甘油	+	2-甲基葡萄糖苷	-
蔗糖	+	可溶性淀粉	+	核糖	-	肌糖	-
纤维二糖	+	D-木糖	+	甜醇	-	DL-乳酸	-
海藻糖	-	D-阿拉伯糖	-	D-甘露糖醇	+	琥珀酸	-
乳糖	-	L-阿拉伯糖	-	D-山梨醇	-	柠檬酸	-

注:“+”表示同化;“-”表示不同化;“1/3+”表示同化 1/3分子

表 3 菌株 Y-9601对碳源同化能力的比较*

碳源	同化性	碳源	同化性	碳源	同化性
葡萄糖	+	蔗糖	++	淀粉	++
棉子糖	+	纤维二糖	+++		
木糖	++	半乳糖	++		

注: 25℃培养 3 d,按生长圈大小判断对碳源同化能力的强弱.“+++”表示生长显著;“++”表示生长良好;“+”表示生长一般.

2.2.2 菌株 Y-9601对糖的发酵 菌株 Y-9601对糖的发酵研究结果见表 4

表 4 菌株 Y-9601对 糖的发酵

糖 类	发酵性	糖 类	发酵性	糖 类	发酵性
葡 萄 糖	+	棉 子 糖	1/3+	纤 维 二 糖	+
半 乳 糖	+	乳 糖	-	蜜 二 糖	-
麦 芽 糖	+	可溶性淀粉	+	海 藻 糖	-
蔗 糖	+	菊 糖	-	2甲基葡萄糖甘	-

注：“+”表示发酵;“-”表示不发酵;“1/3+”表示发酵 1/3分子

2.2.3 菌株 Y- 9601的 其它生理生化特征 菌株 Y-9601不同化硝酸钾 ,不产生类淀粉物质 ,脲酶试验呈阳性 ,在无维生素培养基上不生长 ,在 50% 葡萄糖 - 酵母膏上不生长 ,在含放线菌酮 100 mg /L培养基上不生长 ,最高生长温度 43℃ ,最低生长温度 7℃ ,最适生长温度 30~ 34℃ ,最高生长 pH值为 9. 5,最低生长 pH值为 2. 0,最适生长 pH值为 5. 0~ 6. 0,倍增时间 90 min.

2.3 应用试验

按照前述的固态发酵优化条件 ,进行了菌株 Y-9601固态发酵玉米淀粉渣生产饲料蛋白的应用试验 ,结果见表 5.经 30℃ 发酵 36 h后 ,最终每克发酵干物质酵母数达到 74. 5亿 ,粗蛋白质量分数达 38. 2% ,与发酵前粗蛋白质量分数 25. 5%相比 ,粗蛋白增加量为 12. 70% ,增幅达 49. 80% .

表 5 玉米淀粉渣固态发酵物试验结果

批次	酵母数 (× 10 ⁸ /g)	粗蛋白质量分数 %		表观粗蛋白 增加量 %
		发酵前	发酵后	
1	74. 60	25. 50	38. 18	12. 68
2	72. 85	25. 50	37. 3	11. 80
3	74. 90	25. 50	38. 30	12. 80
4	76. 25	25. 50	39. 05	13. 55
5	74. 35	25. 50	38. 17	12. 67
平均值	74. 50	25. 50	38. 2	12. 70

2.4 结果与讨论

1)菌株 Y-9601以多边芽殖方式进行繁殖 ,在麦芽汁培养基上培养不产醭 .细胞呈圆形、椭圆形 ,有子囊孢子 ,孢子为球形 ,表面光滑 ,不同化硝酸钾 ,同化可溶性淀粉能力强 ,并对可溶性淀粉具有较强的酒精发酵能力 (另文发表) ,在酵母分类上鉴定为酵母亚科酵母属糖化酵母种 (*Saccharomyces diastaticus*).

2)菌株 Y-9601的主要生理特性与日本饭冢广等著《酵母の分类同鉴定法第三版》^[4]酵母种名检索表上糖化酵母菌相似 (见表 6).但菌株 Y-9601能同化纤维二糖及 D- 木糖 ,分解杨梅苷 ,与日本的糖化酵母有所不同 ,是否是一个新种 ,有待对 Y-9601菌株 DNA中 GC的摩尔分数测定后进一步确认 .

3)利用同化淀粉酵母固态发酵淀粉废渣生产饲料蛋白 ,投资少 ,成本低 ,操作简便 .在国

高温,倍增时间短,生长繁殖快,发酵产物酵母数高,是一株具有工业生产使用价值的菌株,有较好的应用前景。

表 6 菌株 Y-9601与日本糖化酵母菌主要生理特征的比较

菌种	发酵性							同化性							杨梅苷分解	维生素要求性			
	葡萄糖	半乳糖	蔗糖	麦芽糖	乳糖	棉子糖	淀粉	纤维二糖	棉子糖	葡萄糖	半乳糖	蔗糖	麦芽糖	乳糖			乙醇	纤维二糖	硝酸钾
日本糖化酵母菌	+	+	+	+	-	1/3+	-	-	1/3+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
菌株 Y- 9601	+	+	+	+	-	1/3+	+	+	1/3+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+

参考文献:

[1] 马桂荣,张玉臻,孔健.固态发酵淀粉渣生产蛋白饲料的研究 [J].食品与发酵工业,1994,1: 20~ 30

[2] 王厚德.饲料酵母的固体发酵及深层发酵 [J].饲料工业,1993,3: 7~ 12

[3] YANG Shang-sing. Protein Enrichment of sweet potato residue with amylolytic yeasts by solidstate fermentation[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1988, 32, 886~ 890

[4] 饭冢广,后藤昭二著.酵母的分类同鉴定法第三联 [M].东京: 东京大学出版会, 1980, 1: 183

[5] Kreger- van R. The Yeasts, A taxonomic study [M]. Netherlands Elsevier science publishers BV Amesterdum, 1984.

[6] 刘学通.饲料酵母总数、活率的测定及注意事项 [J].饲料研究, 1996, 11: 19

[7] GB 6433-86,粗蛋白测定标准 [S].

Identification on the Biological Character and the Application of the Yeast Y- 9601 Strain with Strong Ability to Assimilate Starch

ZHAO Jian-guo, SHI Yan-yi

(School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Abstract The morphology, cultural characteristics and physiological feature of the yeast Y-9601, which was isolated from soil, were studied. The strain reproduced vegetatively by budding multilaterally, forming ascospores. It could assimilate and ferment glucose, galactose, sucrose, maltose and 1/3 raffinose respectively, but couldn't assimilate lactose, potassium nitrate or grow on vitamin-free medium. It has a strong ability to assimilate starch, cellbiose and D-xylose and a high ethanol productivity from starch. The strain was identified as a species of *Saccharomyces diastaticus*. The optimal growth pH and temperature were 5.0~ 6.0 and 30~ 34℃. The doubling time is 90 minutes in the wort liquid culture.

Key words *Saccharomyces diastaticus*; assimilation; fermentation; starch; residue of corn