

文章编号: 1007-4627(2008)02-0204-04

利用甜高粱汁培养面包酵母菌的实验研究^{*}

王菊芳¹, 马良², 高峰², 董喜存², 李文建¹, 肖国青¹

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 白银中科天添生物科技有限公司, 甘肃 白银 730400)

摘要: 利用优质甜高粱汁代替粮食进行发酵生产的优越性已经显现, 在此基础上研究了面包酵母在甜高粱汁中的生长情况, 测定了发酵液中酵母菌的生物量、残总糖等参数, 并在 10—100 l 的发酵罐中进行了培养优化实验。结果表明, 甜高粱汁在工业化生产面包酵母菌中具有很大的潜力。

关键词: 甜高粱汁; 面包酵母菌; 生物量

中图分类号: Q691 **文献标识码:** A

1 引言

甜高粱是一种抗旱高能作物, 对生长环境中水的含量、pH 值的要求比小麦、玉米等粮食作物低很多, 其茎秆汁液含量高达 50%—70%, 含糖量可达 20% 以上, 不仅可以用来发酵生产酒精, 也可用来生产具有经济价值的其它微生物。中国科学院近代物理研究所利用重离子辐照技术对几种甜高粱进行了品种改良, 并在民勤、景泰等地的沙地、旱地、山坡地、盐碱地等多类区域近千亩土地上进行了试种, 取得了良好的结果, 筛选出的优良品系含糖量最高可达到 24% 以上。利用优质甜高粱汁代替粮食进行发酵生产, 可以避免与粮争地, 其发酵生产条件研究是多国科学家攻关的焦点^[1-3]。

人工培养的面包酵母不仅可以用来生产冻干活性酵母粉、酵母味素、 β -葡聚糖等, 其产物还可以广泛地应用于食品加工、酿造、调味品、制药和饲料工业。随着社会的进步和人民生活水平的提高, 酵母系列产品的应用越来越广, 需求量的增长速度高于生产能力的增长, 市场供应状况呈现出偏紧状态, 该产品正迎来其高速成长的时期。开发酵母生产新原料, 在国内已经有一些成功的经验^[4]。本文以优质甜高粱汁为原料, 进行了面包酵母培养的前期实验研究, 为利用甜高粱汁进行面包酵母的生产提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 菌种和培养基

面包酵母 AY 为中国科学院近代物理研究所生物物理组微生物实验室保存。麦芽汁培养基(Malt media)组成(g/l): 麦芽汁 40, 蛋白胨 3.5, 酵母粉 3, 磷酸氢二钾 2, 硫酸铵 1, 硫酸镁 1, pH 为 5.0。YEPD 液体培养基(Sweet sorghum juice)组成(g/l): 葡萄糖 20, 酵母粉 10, 蛋白胨 10, pH 为 5.0。甜高粱汁培养基有两种: 一种是冷藏保存一年的浓缩高粱汁, 用糖度仪测得其外观糖度为 60 °Bx; 另一种为当年新榨高粱汁, 糖度为 20.8 °Bx。两种高粱汁经稀释后用作培养基的糖度为 13 °Bx, pH 为 5.0。固体培养基加入 20 g 琼脂粉。各种培养基 115 °C 下饱和蒸汽灭菌 20 min。

2.2 种子培养及发酵

将生长良好的斜面酵母菌接种于 20 ml 种子培养基中, 温度 30 °C, 转速 150 rounds/min 摇床培养 14—18 h。以 3% 接种量接种于 200 ml 发酵培养基中, 在相同条件下摇床培养发酵。中试实验时可适当加大菌种接种量。

2.3 营养盐的正交实验

(NH₄)₂SO₄, MgSO₄ 和 KH₂PO₄ 对微生物的生长和发酵影响最大。本文采用正交实验设计, 研

* 收稿日期: 2008 - 01 - 04; 修改日期: 2008 - 03 - 11

* 基金项目: 中国科学院西部之光人才培养计划项目(O606180XB0); 中国科学院近代物理研究所所长基金资助项目(0706120SZ0)

作者简介: 王菊芳(1967—), 女(汉族), 陕西岐山人, 博士, 副研究员, 从事辐射生物学研究; E-mail: jufangwang@impcas.ac.cn

究了这 3 种盐对酵母生长的影响。参考甜高粱汁酒精发酵的文献[5]，采用的因素水平如表 1 所示。

水平	因素		
	(NH ₄) ₂ SO ₄	MgSO ₄	KH ₂ PO ₄
1	0.5	0.4	3
2	1.0	0.8	6
3	2.0	1.6	12

2.4 分析方法

在不同的培养时间段先取少量样品用分光光度计(UV-1100/上海美谱达仪器有限公司)于 530 nm 测培养物吸光度(OD)值，确定酵母菌的密度，待 OD 值的变化趋于恒定后取样离心测培养物的生物量。

总糖和残总糖的测定用裴林试剂热滴定法。

2.5 中试实验

小规模中试实验在 10—100 l 发酵罐(GUJS-10-100 AUTOBIO2000 型/东方生物工程设备技术有限公司)中进行。

3 结果

3.1 3 种培养基中面包酵母菌的生长对比

图 1 给出了面包酵母菌在麦芽汁培养基、YEPD 培养基及甜高粱汁培养基中的生长曲线。

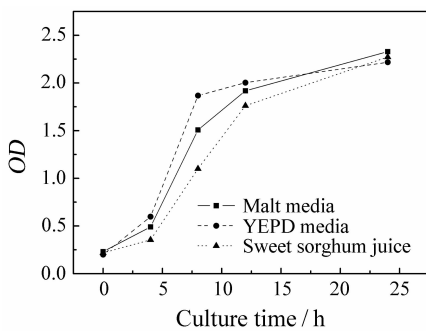


图 1 用分光光度计测量的 3 种培养基中酵母菌密度与培养时间之间的关系

总的来说，酵母菌在 3 种培养基中的生长趋势基本类似：在 16 h 基本完成指数生长，并进入平稳区。面包酵母在 YEPD 培养基中生长得最快，在甜

高粱汁培养基中的生长略慢些，在麦芽汁培养基中的生长居中。这主要是因为 YEPD 培养基中的碳源为葡萄糖，是最利于被酵母菌直接利用的糖类；而甜高粱汁中除葡萄糖外，还有果糖、蔗糖及其它多糖，在被利用之前，先需要对这些糖进行转化。在生长曲线到达平稳区以后，3 种培养基中的酵母菌密度差别不大。

3.2 无机盐对面包酵母的生长影响

在酵母菌的生长过程中，氮源、无机盐是必须的，其主要功能是参与构成菌体成分，作为酶的组成部分或维持酶的活性、调解渗透压等。天然甜高粱汁中，氮源、无机盐的含量不是很高。为改善这一情况，可以在高粱汁中添加少量营养盐。本文采用正交实验设计，针对主要的营养盐(NH₄)₂SO₄，MgSO₄ 和 KH₂PO₄，进行了三因素、三水平的测试，研究了它们对酵母菌生长的影响，所得的结果如表 2 所示。

表 2 正交实验方案及实验结果*

实验号	因素			酵母生物量 / (g/200 ml)
	(NH ₄) ₂ SO ₄	MgSO ₄	KH ₂ PO ₄	
1	1	1	1	5.1
2	1	2	2	5.3
3	1	3	3	4.9
4	2	1	2	5.5
5	2	2	3	5.9
6	2	3	1	5.4
7	3	1	3	6.5
8	3	2	1	6.4
9	3	3	2	6.6
K ₁	15.3	17.1	16.9	
K ₂	16.8	17.6	17.4	
K ₃	19.5	16.9	17.3	
k ₁	5.1	5.7	5.6	
k ₂	5.6	5.9	5.8	
k ₃	6.5	5.6	5.8	
R	1.4	0.3	0.2	

* K_i 表示每个因素三水平三次实验的生物量总和，

k_i 为其平均数，R 为平均数的极差。

依据表 2 的实验结果分析，按极差 R 大小决定 3 种营养盐的主次顺序为 (NH₄)₂SO₄ > MgSO₄ > KH₂PO₄，可见 (NH₄)₂SO₄ 对酵母菌生物量的影响

最大。为了确定进一步增加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 是否可以继续提高面包酵母的生物量, 调整 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的三水平为 3, 6 和 12 g/l, 再进行三因子、三水平的正交实验。结果表明, 经发酵后各组合酵母菌生物量均接近 (6.5—6.8 g/200 ml), 表明营养盐过多并不能引起酵母量的显著增加, 从降低成本出发, 得到的初步最佳组合为 $\text{A}_3\text{B}_2\text{C}_2$, 即 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 和 KH_2PO_4 的加量分别为 2, 0.8 和 6 g/l。由于表 2 没有这一组合, 重新用这一组合进行发酵培养, 测得酵母菌生物量为 6.7 g/200 ml。

换当年新榨甜高粱汁, 利用这一组合进行发酵, 测得酵母菌生物量为 8.1 g/200 ml。面包酵母菌在新高粱汁中的生物量高于储存期近一年的旧高粱汁中的生物量, 表明甜高粱汁在储存过程中可能损失了部分营养成分, 因此, 为确保酵母菌的产量, 对甜高粱汁的储存方法研究也应该引起足够的重视。

3.3 10—100 l 发酵罐验证实验

在基本发酵条件确定以后, 改用 10—100 l 发酵罐进行中试研究。由于酵母菌的增殖过程是需氧条件, 因此在 10 l 发酵罐中, 通过采取空气压缩机进行正压通氧, 并适当提高电机搅拌速度, 使培养基中的溶氧量比摇瓶培养中得到了较大的改善, 所以酵母的生物量有了一些提高, 达到 9.9 g/200 ml。在 100 l 大罐中试实验中, 也基本验证了这一结果。

由于发酵过程中会产生有机酸和乙醇等副产品, 会抑制酵母菌的生长。因此在 10 l 发酵罐中采用动态补加 NaOH 溶液的方法, 使培养液的 pH 维持在 5.0 左右, 以减少酸类副产物对酵母的影响, 进一步提高了酵母的产量, 使每 200 ml 稀释高粱汁的酵母生物量达到了 12.0 g, 每毫升培养液中的酵母数可达 8.95×10^8 个。用斐林试剂热滴定法测得发酵前总糖为 75 g/l, 发酵后残总糖小于 6.5 g/l, 酵母产品对糖的转化率 $Y_{x/s} = 0.306$, 这些数据接近国内以糖蜜为原料生产面包酵母菌的指标^[6, 7]。

4 结论

通过面包酵母菌在麦芽汁、YEPD 及甜高粱汁 3 种培养基中的生长对比可以看出: 酵母菌在 3 种

培养基中的最终生长状态区别不大, 在 16 h 基本完成指数生长, 并进入平稳区。加入适量的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 和 KH_2PO_4 有利于酵母菌生物量的提高。酵母菌在当年新榨高粱汁中的生物量要比冷藏保存的旧高粱汁的生物量高。在 10 l 发酵罐里, 通过对发酵条件的优化, 可使酵母的最终产量达到 60 g/l。利用甜高粱汁在不同培养条件下培养出的面包酵母菌的生物量如表 3 所示。

表 3 不同培养条件下甜高粱汁中培养面包酵母菌所得的生物量

培养条件	酵母生物量 (g/200 ml)
不加盐旧高粱汁摇瓶培养	4.3
加盐旧高粱汁摇瓶培养	6.7
加盐新高粱汁摇瓶培养	8.1
加盐新高粱汁 10 l 发酵罐培养	9.9
加盐新高粱汁 10 l 发酵罐培养并维持 pH 和溶氧	12.0

今后还需要从高粱汁的保存、优良酵母菌的筛选、生产工艺的优化等多方面进行不断改善, 以使面包酵母菌的生物量进一步得到提高。但初步的结果已经表明: 利用甜高粱汁进行工业化生产酵母菌具有很大的潜力。

参考文献 (References):

- [1] Cao Junfeng, Gao Boping, Gu Weibing. *Acta Agriculture Boreali-occidentalis Sinica*, 2006, **15**(3): 201(in Chinese). (曹俊峰, 高博平, 谷卫彬. *西北农业学报*, 2006, **15**(3): 201.)
- [2] Gnansounou E, Dauriat A, Wyman C E. *Bioresource Technology*, 2005, **96**: 985.
- [3] Bulawayo B, Bvochora J M, Muzondo M I, *et al.* *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 1996, **12**: 357.
- [4] Liu Ronghou, Li Jinxia, Shen Fei. *Renewable Energy*, 2008, **33**(5): 1 130.
- [5] Wang Feng, Cheng Xiyu, Wu Tianxiang, *et al.* *Liquor-making Science & Technology*, 2006, **146**(8): 41(in Chinese). (王峰, 成喜雨, 吴天祥等. *酿酒科技*, 2006, **146**(8): 41.)
- [6] Song Chongkai, Cui Youxin. *Journal of East China Institute of Technology*, 1992, **62**(2): 76(in Chinese). (孙崇凯, 崔有信. *华东工学院学报*, 1992, **62**(2): 76.)
- [7] Yuan Sheqiang. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 1998, **21**(3): 99(in Chinese).

(苑社强. 河北农业大学学报, 1998, 21(3): 99.)

Experimental Study on Bread Yeast Cultured in Sweet Sorghum Juice*

WANG Ju-fang^{1, 1)}, MA liang², GAO feng², DONG Xi-cun¹, LI Wen-jian¹, XIAO Guo-qing¹

(1 *Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;*

2 *Bio-technology Limited Company of Tiantian, Baiyin 730400, Gansu, China*)

Abstract: As a substitute for food supplies, sweet sorghum juice with high grade has demonstrated outstanding advantage in fermentation. To obtain the optimized fermentation conditions, the growth, the bio-mass of bread yeast cultured in sweet sorghum juice and total residual sugar were investigated in the paper. The fermentation was performed and optimized in a 10—100 l bio-reactor. The results show that the application of sweet sorghum juice in bread yeast production is very potential.

Key words: sweet sorghum juice; bread yeast; bio-mass

* **Received date:** 1 Jan. 2008; **Revised date:** 11 Mar. 2008

* **Foundation item:** Western Light Talents Training Program of Chinese Academy of Sciences(O606180XBO); Fund of Director of Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences(070612SZO)

1) E-mail: jufangwang@impcas.ac.cn