

# 蔗髓酶水解液培养饲料酵母

王西传 鲁新浩

(中国科学院成都生物研究所, 成都)

木屑、稻草、糠醛渣被用来培养假丝酵母、酿酒酵母, 以生产单细胞蛋白<sup>[1]</sup>。我们以蔗髓酶解的糖液为碳源, 在 1000L 罐通气搅拌培养酵母获得较高的产率, 现报道如下。

## 材 料 和 方 法

### 一、酶解糖液的制备

以木霉固体曲(用量约 30%) 水解 1% 碱处理了的蔗髓。底物浓度 5%, 50℃ pH 5.0 搅拌水解 24 小时, 过滤后备用。

### 二、培养酵母

1. 菌种: 热带假丝酵母(*Candida tropicalis*) 1254 (由轻工业部食品发酵工业研究所赠送), 麦芽汁斜面, 30℃ 培养 1—2 天。

2. 摇瓶培养基成分(%): 酶解糖 1,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.08,  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$  0.12,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  0.06。pH 5.5, 0.8kg/cm<sup>2</sup> 灭菌 30 分钟。500 ml 摇瓶装 100 ml 液体。30℃ 200 r.p.m. 旋转式摇床上培养 24 小时。

### 三、测定方法

1. 还原糖: 用 DNS 比色法<sup>[2]</sup>。
2. pH: 用 pH 试纸测定。
3. 酸度: 碱滴定法测定。以 100 ml 培养液消耗 1N NaOH 毫升数表示。
4. 有机酸: 比色法<sup>[3]</sup>。
5. 挥发性有机酸: 采用气相色谱法。

承吴衍庸同志审阅; 酶解糖液由张光恕、李伯涛同志提供; 郭学敏同志测定挥发性有机酸; 一并致谢。

6. 糖的纸层析: 溶剂系统为正丁醇:醋酸:水=4:1:5, AgNO<sub>3</sub>-氨水显色。

7. 菌体浓度及产率的计算: 100ml 培养液 3000r.p.m. 离心 10 分钟后, 沉淀 80℃ 烘干 6 小时称重, 减去空白重量, 即为菌体浓度 C(g/L)。根据培养基所含还原糖量(G) 计算酵母对还原

$$\text{糖产率 } Y_G = \frac{C}{G} \times 100\%。$$

8. 糖消耗量: 根据培养前后基质中还原糖量计算之。

## 结 果

### 一、不同碳源培养酵母的结果

结果见表 1。

表 1 说明, 以蔗糖酶解糖液为碳源, 其酵母产率最高, 其次是糖蜜水解液, 最差的是葡萄糖加木糖。

为了解 1254 酵母对上述各种糖类的利用情况, 用纸层析法测定了以葡萄糖、葡萄糖加木糖、酶解糖液为碳源的培养残留液中的糖。结果见图 1。

图 1 说明, 酶解糖液含有葡萄糖、木糖、纤维二糖, 它们都能被 1254 酵母同化, 纸层析说明无任何糖存在。但在葡萄糖加木糖培养残液中却有少量木糖。葡萄糖均被同化。以葡萄糖、木糖或糖蜜水解液为碳源培养酵母, 虽然糖的利用率很高, 但 pH 值下降较快, 酵母产率较

低。以酶解糖液为碳源, 发酵 pH 值稳定, 培养基中的三种糖均被 1254 酵母利用。在用 DNS 法测定还原糖时, 在纸层析上无斑点的样品, 却含有 0.2% 左右的还原物, 估计可能是酶解糖液中存在非糖还原物所致。

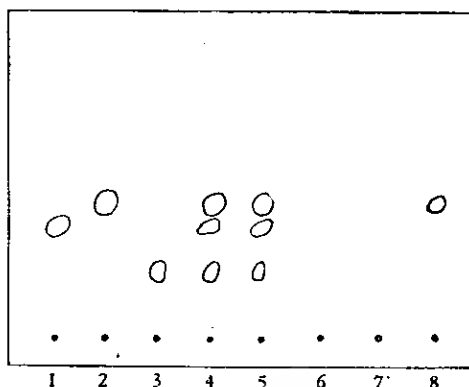


图 1 残留糖的层析结果

图中 1 为葡萄糖标准液; 2 为木糖; 3 为纤维二糖; 4 为葡萄糖、木糖、纤维二糖混合标准液; 5 为酶解糖液; 6 为酶解糖培养残液; 7 为葡萄糖培养残液; 8 为葡萄糖、木糖培养残液。

### 二、获得高产率酵母的探讨

Bennet 指出, 由碳水化合物生成菌体的产率为 45.11%<sup>[4]</sup>, Darlington<sup>[5]</sup>、White<sup>[6]</sup> 等人也提出类似的结果, 其产率分别为 42.27%、43.23%。我们认为获得高产率的原因, 不只是酵母把酶解液中的糖完全利用, 更重要的是酶解液中存在其他可供酵母生长利用的有机物。

表 1 不同碳源培养酵母的效果

结 果 碳源名称	项 目 终 pH	糖 耗 (%)	菌体浓度 (g/L)	产 率 (%)	其 他 条 件
蔗糖酶解糖液	5.5	91.32	5.2	52.00	未加生长素
糖蜜酸水解液	4.0	96.42	4.17	44.83	同 上
葡萄糖 (1)	2.5	98.14	3.5	35.53	同 上
葡萄糖 (2)	3.0	98.12	3.1	31.47	加少量酵母膏、蛋白胨
葡萄糖 (3)	3.0	98.22	3.65	37.06	加肌醇 20ppm, 泛酸钙 10ppm VB <sub>1</sub> 2 ppm, 生物素 0.01ppm
葡萄糖+木糖	2.5	98.18	3.1	29.67	未加生长素
同 上	3.0	98.26	3.15	30.15	加少量酵母膏、蛋白胨
同 上	3.0	98.37	4.10	39.24	同葡萄糖 (3)

表 2 1254 酵母对有机酸的利用

结 果 碳源名称	项 目	气 相 色 谱 法 (ppm)				比 色 法 (ppm)		培 养 残 液	
		培 养 前		培 养 后		培 养		pH	酸 度
		乙 酸	丙 酸	乙 酸	丙 酸	前	后		
蔗糖酶解液		1428.1	8.2	0	0	1400	6	5.5	0.7473
糖蜜水解液		微 量	0	0	0	28	1	—	—
葡萄糖		0	0	0	0	0	0	2.5	1.4945
葡萄糖、木糖		0	0	0	0	0	0	2.5	1.4732

许多微生物在好气培养时,除利用葡萄糖通过 HMP 途径进入 TCA 循环外,还可利用有机酸、醇类等进入 TCA 循环。我们因此对酶解糖液中的有机酸及酵母对有机酸的利用进行了比较,结果见表 2。

表 2 说明,酶解糖液培养基中含有较多的有机酸,主要是乙酸,丙酸量甚微。无其他非挥发性有机酸。二种测定方法的结果表明,酶解液中的有机酸几乎完全被 1254 酵母利用。在其他物质为碳源的培养基中,则无有机酸或甚微,这是酵母产率不同的原因之一。

用丙酮处理酶解糖液,发现有大量可溶性蛋白存在。而在糖蜜酸水解液、葡萄糖培养基中则无沉淀物生成。测定酶解糖液培养基蒸馏物中酒精含量时,发现存在少量乙醇(约 50mg/100ml)。

## 讨 论

蔗糖酶解糖液是一种成分复杂的混合物,

它除含有六碳糖、五碳糖外,还含有有机酸(主要是乙酸)、乙醇、可溶性蛋白等,这些物质都可供 1254 酵母利用。而酶解糖液培养基有一定缓冲作用,在培养过程中可使 pH 值稳定在酵母生长最适范围内,这些是获得高产率酵母的有利因素。

## 参 考 文 献

- [1] 阿部慎一郎,高木基福:日本公關特許公報,昭和 54-98389,1979。
- [2] Sumner, J. B., Graham, V. A.: *J. Biol. Chem.*, 47: 5, 1921.
- [3] Montgomery, H. A. C., Joan, F. D., Thom, N. S.: *The Analyst*, 87: 1041, 949—955, 1962.
- [4] Bennet, J. C., Hondermarek, J. C.: *Hydrocarbon Processing*, 48: 104, 1969.
- [5] Darlington, W. A.: *Biotechnol. Bioeng.*, 6: 241, 1964.
- [6] White, J.: *Yeast technology*, Chapman & Hall, 1954.