

耐高温酵母 WVHY8 的生物学特性及其应用

蒋亚平 蔡金芝 杨宝玉 罗孝扬 严家骥

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430071)

摘要 从本实验室分离的 200 多株酵母菌中,经反复筛选获得一株耐高温产酒酵母 WVHY8。该菌株具有以下主要特性: 1. 适宜生长温度范围广(30—42℃), 夏季高温 38—40℃ 时能正常发酵, 含酒量 >9(V)%; 2. 一吨酒精节约冷却水 12 吨以上; 3. 耐酸, pH3.0 时能正常发酵, 有利于控制杂菌的污染; 4. 耐酒精浓度 14%。经鉴定 WVHY8 属葡萄汁酵母 (*Saccharomyces uvarum*)。

关键词 耐高温酵母; 鉴定; 发酵

当前我国酒精生产中使用的传统菌种为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)。这些菌株的发酵温度控制在 28—34℃, 当温度超过 35℃ 时, 生长和发酵能力大大减弱。经蒸煮、糖化的醪液必需冷却到 28℃ 以下才能进入发酵生产。由于酵母菌生长发酵是放热反应, 所以发酵罐也需冷却, 需耗大量的冷却水。尤其在

夏季水温升高, 发酵温度往往高达 38℃, 消耗冷却水更多。为了保证正常发酵, 提高出酒率和节省能源, 国内外都很重视耐高温产酒酵母

本课题为国家“七·五”科技攻关项目(75—49—02—07)。实验得到武汉酒厂、长沙酒厂、南阳酒精总厂等厂家的协助, 特此致谢。

研究。本文报道一株耐高温产酒酵母 WVHY8 (以下简称 8[#] 菌) 的生物学特性及其在酒精生产中的应用。

材料与方法

(一) 菌种

8[#] 菌株由本实验室分离的 200 多株酵母菌中筛选获得。K 酵母为传统的生产菌株。

(二) 培养基

1. 菌种形态观察用培养基: 13°Bx 麦芽汁和 13°Bx 麦芽汁琼脂培养基。

2. 假菌丝观察用培养基: 玉米粉琼脂培养基, 12.5g 玉米粉放入 300ml 水中搅匀, 在 60℃ 热水浴中保温 1 小时, 用滤纸过滤, 滤液加水至 300ml, 加 3.8g 琼脂, 1kg/cm² 灭菌 15 分钟, 趁热用脱脂棉过滤, 0.35kg/cm² 灭菌 15 分钟, 备用。

3. 产子囊孢子培养基(%): 醋酸钠 0.82, 葡萄糖 0.04, 琼脂 1.5, 0.55kg/cm² 灭菌 30 分钟。

(三) 生理特性测定

1. 发酵糖类、同化碳源和氮源, 按方心芳的方法进行^[1]。

2. 生长温度极限: 用麦芽汁琼脂斜面, 划线接种, 分别置 30、35、40、43、46 和 50℃ 培养, 观察菌苔生长情况。

3. 死灭温度: 在 50—100℃ 的水浴中维持 5 分钟, 立即冷却, 置 28℃ 温箱培养, 观察酵母菌生长及产气情况。

4. 耐酸试验: 用杜氏管, 加不同 pH 缓冲液, 灭菌后加入菌悬液 0.3ml, 摇匀, 置 28℃ 培养箱培养, 观察生长和产气情况。

5. 耐乙醇试验: 用杜氏管, 在麦芽汁培养基中按不同浓度添加无水乙醇, 每管接一环新鲜斜面酵母菌, 于 28℃ 下培养, 观察生长和产气情况。

6. 发酵试验: 在南洋酒精厂, 按该厂原生产工艺进行。

7. 酒精生产的分析按文献 [2] 进行。

结果与讨论

(一) 形态培养特征

8[#] 菌在麦芽汁中 (30℃) 培养 3 天细胞卵圆或椭圆, 细胞大小为 3.6—6.0 × 4.8—7.2 μm。繁殖方式: 多边芽殖。在麦芽汁中 (30℃) 培养, 菌体沉积于管底, 紧密, 管壁无膜无醭。在麦芽汁琼脂培养基上生长的菌落为乳白色、平滑、有光泽、边缘整齐。在加盖片的玉米粉琼脂培养基上培养不形成假菌丝。由营养细胞直接形成子囊孢子, 每个子囊含有 1—4 个圆形或椭圆形、表面光滑的子囊孢子, 大小 3.6 × 3.6 μm。

(二) 生理生化特性

1. 发酵糖类试验: 8[#] 菌株能发酵葡萄糖、麦芽糖、半乳糖、蔗糖、棉子糖、蜜二糖, 不发酵乳糖、纤维二糖。

2. 同化碳源试验: 8[#] 菌同化葡萄糖、麦芽糖、半乳糖、蔗糖、棉子糖、蜜二糖、乙醇、甘油、松三糖、D-木糖; 不同化 L-阿拉伯糖、D-阿拉伯糖、山梨糖、核糖、鼠李糖、肌醇、赤藓醇、柠檬酸、琥珀酸、乳酸、海藻糖、菊糖、纤维二糖、可溶性淀粉。

3. 同化氮源试验: 8[#] 菌株能同化硫酸铵, 尿素、盐酸乙胺, 不同化硝酸钾。

由于耐高温产酒酵母 8[#] 菌在麦芽汁培养基上细胞卵圆、椭圆, 形成沉淀, 不形成膜、醭, 每个子囊中有 1—4 个圆形子囊孢子, 能发酵葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、半乳糖、蜜二糖和棉子糖, 不利用硝酸钾, 按 Lodder^[3] 分类系统, 应归属于酵母属的葡萄汁酵母 (*Saccharomyces uvarum* Beijerinck)。

4. 生长温度极限: 8[#] 菌在 46℃ 麦芽汁斜面上菌苔生长良好, 而 K 酵母在 40℃ 麦芽汁斜面上生长较弱。

5. 死灭温度: 在 50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 和 100℃ 的水浴温度下, 5 分钟热处理后的生长情况, 结果表明: 8[#] 菌的死灭温度为 100℃, 而 K 酵母为 60℃。

6. 耐酸: 实验表明 8[#] 菌在 pH 2.5—8.0 范围内生长良好, 而 K 酵母 pH 2.5 时生长差。8[#]

菌具有耐酸特性,有利于控制杂菌污染。

7. 耐酒精性能: 试验表明, 8[#] 菌能耐 14% 的酒精浓度, 而 K 酵母能耐 13% 酒精浓度。

(三) 大罐发酵试验

1. 1989 年 8 月南阳酒精总厂采用耐高温酵母 8[#] 菌, 发酵原料为木薯, 发酵罐容积 170 M³, 连续 14 天, 生产 103 罐。结果证明: 8[#] 菌完全适应在夏季高温时进行正常发酵。发酵最终结果表明, 残余外观糖除个别罐在零以上, 绝大部分罐为负值, 含酒量最高达 12.99% (用比重瓶称量法), 以下为 103 罐发酵结果的平均值 (表 1)。

表 1 103 罐发酵(平均值)结果

残余外观糖 (°Br)	残余还原糖 (%)	残余总糖 (%)	酸度 (ml)	含酒量 (%,V)
-0.315	0.297	0.847	0.52	11.17

2. 南阳酒精厂在应用 8[#] 菌进行大生产中, 重点查定了 12 个罐的发酵结果。试验表明, 8[#]

菌在主发酵温度为 38—40.5℃ 时, 发酵良好。结果见表 2。

表 2 生产中的 12 个罐高温发酵结果

罐号	残余外观糖 (°Br)	残余还原糖 (%)	残余总糖 (%)	酸度 (ml)	含酒量 (%,V)	主发酵 最高温度 (℃)
1	-0.47	0.06	0.60	0.45	10.69	39.5
2	-0.23	0.05	0.60	0.40	9.72	39.0
42	-0.40	0.08	0.65	0.45	10.99	38.0
40	-0.23	0.15	0.65	0.45	11.03	39.5
11	0.60	0.98	1.60	0.50	11.09	40.8
12	-0.34	0.09	0.53	0.50	11.43	39.5
36	0.13	0.05	1.33	0.50	11.99	40.5
37	-0.32	0.48	0.80	0.40	12.56	40.5
3	-0.17	0.28	0.79	0.50	11.60	40.0
4	-0.56	0.03	0.60	0.45	11.72	38.5
5	-0.42	0.10	0.55	0.50	12.54	39.5
6	-0.23	0.20	0.38	0.50	12.54	39.5
平均	-0.23	0.25	0.76	0.47	11.49	39.6

3. 不同满罐温度的发酵结果: 8[#] 菌生长温度适应范围较广, 满罐温度即使达到 35.5℃

表 3 不同满罐温度的发酵结果

结果 满罐温度 (℃)	测定项目 罐号	残余 外观糖 (°Br)	残余 还原糖 (%)	残余 总糖 (%)	酸度 (ml)	含酒量 (%,V)
29.5	12	-0.34	0.038	0.52	0.5	11.43
31.0	10	-0.40	0.175	0.63	0.5	12.98
32.0	43	-0.25	0.150	0.65	0.45	11.03
33.0	2	-0.23	0.050	0.60	0.40	9.72
34.5	9	-0.47	0.075	0.58	0.50	12.96
35.5	1	-0.47	0.060	0.60	0.45	10.69

表 4 不同主发酵温度的发酵结果

结果 主发酵温度 (℃)	测定项目 罐号	残余 外观糖 (°Br)	残余 还原糖 (%)	残余 总糖 (%)	酸度 (ml)	含酒量 (%,V)
33.5	10	-0.4	0.175	0.625	0.50	12.99
36.0	9	-0.47	0.075	0.575	0.50	12.96
38	42	-0.40	0.075	0.650	0.45	10.98
39	5	-0.40	0.100	0.550	0.50	12.99
40	3	-0.17	0.275	0.788	0.50	11.60
40.5	37	-0.32	0.475	0.810	0.40	12.53

仍能正常发酵。结果见表 3。

4. 不同主发酵温度的发酵结果表明, 8[#] 菌能适应中温、高温不同主发酵温度, 并能正常发酵, 结果良好(表 4)。

南阳酒精厂和国内其他一些酒精厂连续使用 8[#] 菌, 共同得出以下结论:

1. 在常温和高温 (28—42℃) 下, 南方和北方, 一年四季均能正常生产。

2. 耐酸。在 pH 3.0 能正常发酵, 有利于控制杂菌污染。

3. 适宜多种原料发酵。如大米、玉米、薯干、木薯等淀粉原料及甘蔗、甜菜的废糖蜜等, 发酵能力较强, 原料消耗降低, 残余外观糖和挥发酸下降, 平均出酒率比其它生产用酵母菌提高 1—2%。

4. 发酵周期一般 48—60 小时, 比其它酵母菌缩短 10—15 小时, 设备利用率提高 20% 左右。

5. 适宜浓醪发酵(外观糖 20°Bx 左右), 酒分可达 13%。

6. 酵母菌性能稳定。在生产中连续使用 4 年未发现变异、退化现象。

参 考 文 献

1. 方心芳: 应用微生物学实验法, 中国财经出版社; 北京, 第 62—80 页, 1962 年。
2. 胡嗣明, 张天抗: 酒精生产分析检验, 轻工业出版社, 北京, 1983 年。
3. Lodder J: The Yeasts, A Taxonomic Study (Second Edition), North-Holland Pub. Co., Amsterdam, p. 689—713, 1970.