

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2025.01.020

邓娟丽, 孙长坡, 赵一凡, 等. 优良抗逆性能的高蛋白酵母菌的筛选及特性研究[J]. 粮油食品科技, 2025, 33(1): 192-199.

DENG J L, SUN C P, ZHAO Y F, et al. Screening and characterization of high protein yeast with excellent stress tolerance[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2025, 33(1): 192-199.

# 优良抗逆性能高蛋白酵母菌的 筛选及特性研究

邓娟丽<sup>1,2</sup>, 孙长坡<sup>3</sup>, 赵一凡<sup>2</sup>, 李天天<sup>2</sup>, 尹鹏<sup>2</sup>✉

1. 河南工业大学 粮油食品学院, 河南 郑州 450001;
2. 国家粮食和物资储备局科学研究院 粮油加工研究所, 北京 100037;
3. 国家粮食和物资储备局标准质量中心, 北京 100834)

**摘要:** 我国蛋白质资源紧缺, 影响饲料业和畜牧业发展, 而酵母蛋白营养丰富、开发潜力强。为了筛选抗逆性能优良的高蛋白酵母菌株, 实验以发面、牛瘤胃食糜、玉米浆等为筛菌对象, 通过压力 (pH 为 3.5) 筛选、分离、鉴定得到不同酵母菌株, 通过分析菌株的生长性能、菌体蛋白含量和风味确定了 1 株可用于酵母蛋白的潜力菌株。结果表明: 从不同样品中筛选得到 20 株耐酸性酵母菌, 鉴定出 8 个菌属酵母: 酿酒酵母菌、毕赤酵母菌、马克斯克鲁维酵母菌、解脂耶氏酵母、热带假丝酵母、*Starmerella bacillaris*、鲁氏接合酵母和有孢汉逊酵母; 在 pH 为 3.5 和 7.0 的摇瓶培养条件下, 通过分析其生物量及菌体蛋白产量确定了两株性能较优的菌株, 分别是毕赤酵母菌株 B-1 和解脂耶氏酵母菌株 D-1; 进一步通过风味分析, 发现菌体 B-1 呈味核苷酸和谷氨酸含量均高于菌体 D-1, 且具有较高含量的酯类化合物。因此, 确定 B-1 菌株作为潜力菌株并研究了 B-1 菌株的生长特征及抗逆性能, 在 pH $\geq$ 2.0、温度 $\leq$ 40 °C、盐 (NaCl 计) 浓度 (w/v)  $\leq$ 70 g/L 的条件下均能较好生长。

**关键词:** 高蛋白酵母菌; 筛选; 风味; 抗逆性能

中图分类号: TS201.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2025)01-0192-08

网络首发时间: 2024-12-26 14:00:36

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.3863.TS.20241225.1533.012>

## Screening and Characterization of High Protein Yeast with Excellent Stress Tolerance

DENG Juan-li<sup>1,2</sup>, SUN Chang-po<sup>3</sup>, ZHAO Yi-fan<sup>2</sup>, LI Tian-tian<sup>2</sup>, YIN Peng<sup>2</sup>✉

1. College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan 450001, China; 2. Institute of Cereal and Oil Science and Technology, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China;

3. Standard Quality Center of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100834, China)

收稿日期: 2024-05-08; 收稿日期: 2024-06-16; 收稿日期: 2024-06-17

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目“抗逆酵母菌的筛选及其在玉米浆中的应用”(ZX2236)

Supported by: Central Research Institutes of Basis Research and Public Service Special Operations “Screening of stress-resistant yeast and its application in corn steep liquor” (No. ZX2236)

第一作者: 邓娟丽, 女, 2000 年出生, 在读硕士生, 研究方向为食品工程, E-mail: dengjl830@163.com

通信作者: 尹鹏, 男, 1994 年出生, 硕士, 助理研究员, 研究方向为粮油副产物高值化利用和真菌毒素防控, E-mail: yp@ags.ac.cn

**Abstract:** Protein feed resources in China are scarce, which hinders the development of feed industry and animal husbandry. Yeast protein is rich in nutrients and has significant development potential. Yeast strains were isolated and identified under acidic conditions (pH 3.5), from fermented flour, bovine rumen chyme, corn steep liquor, and other raw materials. Through the determination of the growth performance, bacterial protein and flavor of the strains, a promising high-protein yeast strain was identified as a potential strain for yeast protein processing. Further, the research indicated that 20 acid-tolerant yeast strains, including *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia fermentans*, *Kluyveromyces marxianus*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida tropicalis*, *Starmerella bacillaris*, *Zygosaccharomyces rouxii* and *Hanseniaspora thailandica*, were obtained from different raw materials. Two superior strains, *Pichia pastoris* B-1 (7.65 g/L biomass, 4.96 g/L protein yield at pH 3.5; 9.32 g/L biomass, 5.81 g/L protein yield at pH 7.0) and *Lactobacillus cerevisiae* D-1 (8.00 g/L biomass, 3.91 g/L protein yield at pH 3.5; 14.91 g/L biomass, 6.87 g/L protein yield at pH 7.0), were identified based on biomass and protein production under shaking flask culture conditions. Flavor analysis revealed that strain B-1 had a higher content of flavor nucleotides and glutamic acid than strain D-1, along with a greater concentration of ester compounds. Thus, strain B-1 was identified as the potential strain for further application. Therefore, B-1 strain was determined as the target strain. Finally, the growth characteristics and stress tolerance of B-1 strain were examined. It exhibited robust growth under conditions of  $\text{pH} \geq 2.0$ ,  $\text{temperature} \leq 40^\circ\text{C}$  and  $\text{NaCl concentration (w/v)} \leq 70\text{ g/L}$ .

**Key words:** high protein yeast; screening; flavor; stress tolerance

我国蛋白资源供给不足,严重依赖进口,2022年我国进口大豆9 500万 t<sup>[1]</sup>,其中80%用于饲料。为深入贯彻落实国家粮食安全战略,扎实推进粮食节约行动方案,加强实施饲料粮减量替代计划,2021年3月15日我国农业农村部提出“玉米豆粕减量替代技术方案”,2022年科技部在“畜禽新品种培育与现代牧场科技创新”重点专项中提出“畜禽低蛋白低豆粕多元化日粮配制与节粮技术”,因此开发新型蛋白质资源是当前急需。

酵母是一类包括酿酒酵母和非常规酵母在内的能发酵糖类的多种单细胞真核微生物的总称,主要分布在高糖和偏酸性的环境中<sup>[2]</sup>,其发酵所需空间小、繁殖快、可以将农业加工副产物资源化利用,自身兼具风味良好、天然营养丰富和蛋白含量高优点,被认为是最理想的蛋白质来源<sup>[3]</sup>。

酵母在发酵过程中,常会遇到强酸性、高温、高盐等极端环境,这对酵母的抗逆性能提出了很高的要求<sup>[4]</sup>。国外科研工作者通过基因重组技术获得耐酸性较强且产量较高的酿酒酵母,但是获得的酵母耐酸性能不够稳定<sup>[5-6]</sup>,国内研究人员通常选择传统的方法进行选育酿酒酵母,且对于耐酸性的非常规酵母的选育报道较少。因此,对于

耐酸性的高产酵母菌株的筛选工作有待进一步深化。

本研究从不同样品中筛选出耐酸性优良的酵母菌,通过对其蛋白、呈味核苷酸、谷氨酸的含量和抗逆性能的分析,确定1株优良抗逆性能的高蛋白酵母菌,以为酵母蛋白饲料的应用开发提供更优良的菌株。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 样品

发面:山西北部、河南等地;食糜:屠宰场食草动物;玉米浆:某玉米加工企业;水果:某果园等;CK1菌株、CK2菌株:筛选自安琪饲料添加剂酵母。

#### 1.1.2 主要试剂

酵母浸粉、蛋白胨、葡萄糖、琼脂粉、磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )、氯化钾( $\text{KCl}$ )、氯化钙( $\text{CaCl}_2$ )、七水硫酸镁( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )、氯化铁( $\text{FeCl}_3$ )、硫酸锰( $\text{MnSO}_4$ )、甘油:国药集团化学试剂有限公司;溴甲酚绿:上海源叶生物科技有限公司;氨基青霉素:北京索莱宝科技有限公司。实验所

用得试剂均为分析纯或生化试剂。

### 1.1.3 培养基

酵母浸出粉蛋白胨葡萄糖 (Yeast extract peptone dextrose medium, YPD) 液体培养基 (g/L): 酵母浸粉 10.0、蛋白胨 20.0、葡萄糖 20.0, 115 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 自然 pH。如配制固体培养基另加入 20.0 g 琼脂粉。压力筛选培养基用乳酸调节 pH 为 3.5。

WL 营养琼脂 (Wallerstein laboratory nutrient agar, WL) 固体培养基 (g/L): 酵母浸粉 4.0、葡萄糖 50.0、蛋白胨 5.0、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.55、 $\text{KCl}$  0.425、 $\text{CaCl}_2$  0.125、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.125、 $\text{FeCl}_3$  0.002 5、 $\text{MnSO}_4$  0.002 5、琼脂粉 20.0、溴甲酚绿 0.022, 115 °C 高压蒸汽灭菌 20 min, 自然 pH。

## 1.2 仪器与设备

YJ-VS-1 型单人垂直超净工作台: 无锡一净化设备有限公司; LDZX-50L 型高压蒸汽灭菌锅: 上海申安医疗器械厂; DHP-9602 电热恒温培养箱: 上海一恒科学仪器有限公司; BS-2E 型恒温振荡培养箱: 常州恒隆仪器有限公司; UV-1900i 型紫外-可见分光光度计: 岛津企业管理(中国)有限公司; ME204 型电子分析天平、FE22 型 pH 计: 梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司; 蛋白分析仪(杜马斯定氮法): 德国 Elementar 公司。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 优良耐酸性能酵母菌株的筛选

准确称取 1 g 样品于 2 mL 无菌水中震荡 1 min 形成悬液, 取上清液 1 mL 于 20 mL 的 YPD 培养基, pH 为 3.5, 30 °C, 220 r/min 培养 24 h, 结束后稀释涂布于 WL 培养基 30 °C 培养 2 d, 然后挑取生长状况良好的单菌落, 转接到 YPD 固体培养基备用。

### 1.3.2 菌株保藏

挑取酵母单菌落接入 YPD 液体培养基中进行活化, 将活化好的菌液接入 50 mL YPD 培养基, 30 °C, 220 r/min 培养 24 h, 将菌液保存至浓度为 25% (m/v) 的甘油水溶液的保菌管中, 置于 -80 °C 冻存备用。

### 1.3.3 菌株鉴定

形态学观察: 挑取 WL 培养基上不同形态的菌落进行美蓝染色, 观察真菌形态及繁殖方式<sup>[7]</sup>。

分子生物学鉴定: 用基因组提取试剂盒提取总 DNA, 进行 ITS 序列测定, 将所得序列与 GenBank 中序列进行 BLAST 分析比较, 以 ITS 基因序列同源性 A>99% 为准, 采用 Mega 11 软件构建系统发育树。

### 1.3.4 酵母菌株的蛋白测定

菌株活化后, 取单菌落接种于 YPD 液体培养基中培养 12 h 形成种子液(下同), 按 5% (v/v) 接种于特定 pH 条件下 YPD 液体培养基中培养 48 h, 离心取沉淀冷冻干燥得到菌体干粉。蛋白含量的测定参考 GB/T 24318—2009《杜马斯燃烧法测定饲料原料中总氮含量及粗蛋白质的计算》。

### 1.3.5 酵母菌株的风味研究

呈味核苷酸的测定参考 GB 5413.40—2016《婴幼儿食品和乳品中核苷酸的测定》。

谷氨酸的测定参考 GB 5009.124—2016《食品中氨基酸的测定》。

挥发性有机物的测定参考 Limin<sup>[8]</sup> 的方法。

### 1.3.6 优良耐酸酵母菌株生长特征的测定

最适生长 pH 值: 用乳酸调节 YPD 液体培养基的 pH 值为 3.0、3.2、3.4、3.6、3.8、4.0、4.2、4.4、4.6、4.8、5.0, 按 5% (V/V) 的接种量将酵母种子液接种于装液量为 20 mL YPD 液体培养基的 50 mL 三角瓶中, 在不同 pH、30 °C、220 r/min 条件下振荡培养, 每组 3 份平行, 培养 24 h 后使用紫外-可见分光光度计在波长 600 nm 处测定菌液的 OD<sub>600 nm</sub> 值。

最适生长温度: 按 5% (V/V) 的接种量将酵母种子液接种于 20 mL YPD 液体培养基中, 培养温度为 22、24、26、28、30、32 °C, 转速为 220 r/min 下振荡培养, 每组平行 3 份, 培养 24 h 后使用紫外-可见分光光度计在波长 600 nm 处测定菌液的 OD<sub>600 nm</sub> 值。

生长曲线的测定: 按 5% (V/V) 的接种量将酵母种子液接种于 20 mL YPD 液体培养基中, 在最适条件下振荡培养, 每组平行 3 份, 定期取样测定菌液的 OD<sub>600 nm</sub> 值, 以发酵时间 (x) 为横坐

标, OD<sub>600 nm</sub> 值 (y) 为纵坐标绘制生长曲线。

### 1.3.7 优良耐酸酵母菌株抗逆性的测定

杜氏小管发酵法: 用接种环挑取酵母菌株, 于 20 mL 的 YPD 培养基中, 30 °C、220 r/min 振荡培养 12 h 作为种子液 (下同), 5% (V/V) 的接种量种子液于装有 6 mL YPD 液体培养基的试管中, 倒置放入杜氏小管, 避免杜氏小管内有气体存在, 密封后于 30 °C 静置培养, 每隔 6 h 观察并记录杜氏小管内产气情况, 筛选出抗逆性和发酵性能较好的菌株, 并与市售菌株 CK1 和 CK2 生长性能较优的做对比。

酸抗逆性能测定: 培养基 pH 调节为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 和自然 pH (7.0), 观察并记录产气情况。

高温抗逆性能测定: 培养基培养温度分别为 30、35、40、45 和 50 °C, 观察并记录产气情况。

盐抗逆性能测定: 在 YPD 液体培养基中加入 NaCl, 使培养基中 NaCl 含量为 10、30、50、70 g/L 和空白对照, 观察并记录产气情况。

## 1.4 数据处理

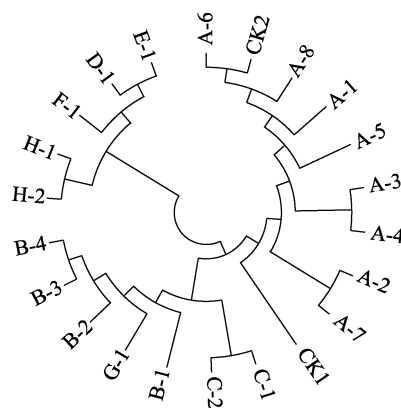
采用 origin 2019 对数据进行整理和作图, 数据结果以“平均值±标准差”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 耐酸性酵母菌的筛选

不同样品经过压力筛选获得 20 株能够在 pH 3.5 条件下存活的酵母菌株, 根据菌株的不同形态进行编号, 并对其进行形态学观察和分子生物学鉴定。对分离得到的菌进行 ITS 测序后, 所测的

序列与 Genbank 中的序列及比对, 鉴定出 8 个菌属的酵母菌, 分别是酿酒酵母 (A-1~A-8)、毕赤酵母 (B-1~B-4)、马克斯克鲁维酵母 (C-1, C-2)、解脂耶氏酵母 D-1、热带假丝酵母 E-1、*Starmerella bacillaris* F-1、鲁氏接合酵母 G-1 和有孢汉逊酵母 (H-1, H-2)。利用 Mega 11 软件构建系统发育树 (见图 1), 结果显示不同菌株差异明显, 待进一步深入研究。



注: CK1、CK2 均为安琪酵母添加剂和食用干酵母分离获得。

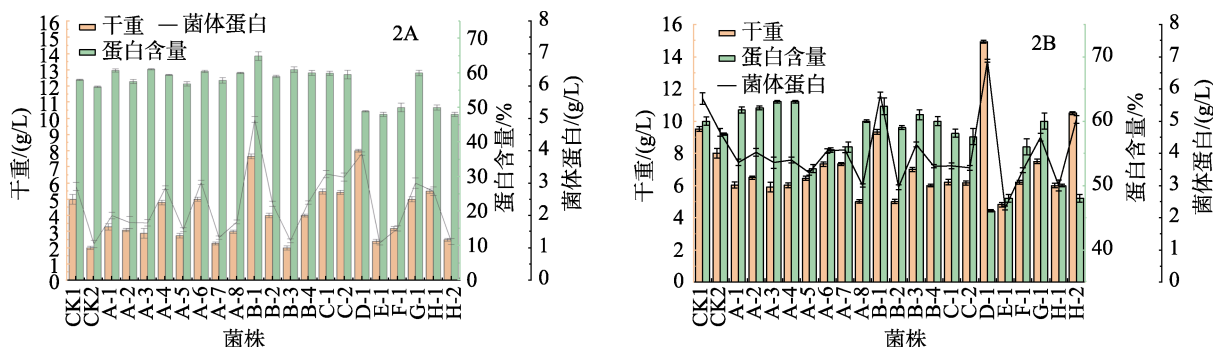
Note: CK1 and CK2 were isolated from Angel yeast additive and edible dry yeast.

图 1 各分离菌株进化发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of various isolated strains

### 2.1.1 酵母菌株蛋白含量的测定

在 pH 为 3.5 和 7.0 的 YPD 培养基条件下, 对分离得到的 20 株酵母菌进行发酵, 测定了其干重、蛋白含量以及菌体蛋白 (见图 2A~2B)。明显地, B-1、D-1 菌体蛋白产量较高, 分别是毕赤酵母和解脂耶氏酵母, 当 pH 为 3.5 时, B-1 发酵所得菌体干重、蛋白含量以及菌体蛋白分别为



注: 2A 代表 pH 为 3.5 的生长条件; 2B 代表 pH 为 7.0 的生长条件。

Note: 2A represents the growth condition at pH 3.5; 2B represents the growth condition at pH 7.0.

图 2 各菌株在 YPD 的生长情况

Fig.2 The growth of each strain in YPD

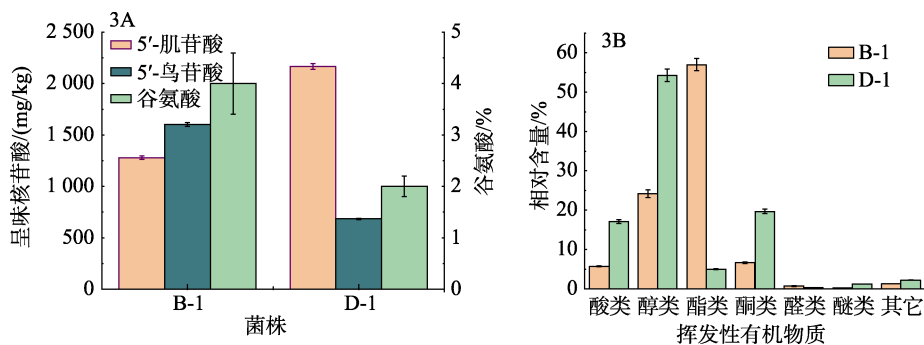
7.65 g/L、64.91%、4.96 g/L, D-1 发酵所得菌体干重、蛋白含量以及菌体蛋白分别为 8.00 g/L、48.920%、3.91 g/L; 当 pH 为 7.0 时, B-1 发酵所得菌体干重、蛋白含量以及菌体蛋白分别为 9.32 g/L、64.30%、5.81 g/L, D-1 发酵所得菌体干重、蛋白含量以及菌体蛋白分别为 14.91 g/L、46.08%、6.87 g/L。此两株菌均为食用安全菌, 其中解脂耶氏酵母也被美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 认定为一般是安全的 (Generally Recognized as Safe, GRAS) 微生物<sup>[9]</sup>, 均可作为单细胞蛋白的生产菌株。

### 2.1.2 酵母菌株的风味研究

风味在饲料和食品中是至关重要的, 在酵母加工制品中, 决定它的风味物质是谷氨酸、呈味核苷酸 (5'-肌苷酸和 5'-鸟苷酸) 以及挥发性有机物含量。据报道, 5'-肌苷酸二钠和 5'-鸟苷酸二钠

与谷氨酸并用能使鲜味明显加强, 5'-肌苷酸二钠具有和谷氨酸钠相互促进的作用, 能使鲜味增至 8 倍<sup>[10]</sup>。酵母在发酵过程中, 会产生一定量的酯类、高级醇、低级脂肪酸、高级酯等挥发性有机物, 带来浓郁的醇、酯等香味, 能够增加食品或饲料的营养, 同时还具有调味或诱食的功能<sup>[11-12]</sup>。因此, 为了筛选到具有良好风味的高蛋白酵母, 对 B-1 和 D-1 酵母菌进行风味研究。

图 3A 显示, B-1 菌体 5'-肌苷酸和 5'-鸟苷酸含量分别是 1 279.82 mg/kg 和 2 165.69 mg/kg, D-1 菌体 5'-肌苷酸和 5'-鸟苷酸含量分别是 1 601.89 mg/kg 和 685.54 mg/kg; B-1 菌体和 D-1 菌体谷氨酸含量分别是 4%和 2%。呈味核苷酸总量以及谷氨酸含量 B-1 菌体均高于 D-1 菌体。对 B-1 菌体和 D-1 菌体做了 GC-IMS 分析。图 3B 显示, B-1 的酯含量显著高于 D-1, D-1 的酸类、醇类和酮类含量显著高于 B-1。



注: 3A 代表菌体呈味核苷酸和谷氨酸的含量; 3B 代表菌体挥发性组成相对含量。

Note: 3A represents the content of taste nucleotides and glutamic acid in bacterial cells; 3B represents the relative content of volatile composition in bacterial cells.

图 3 菌体 B-1 和 D-1 的风味研究  
Fig.3 Flavor study of bacterial strains B-1 and D-1

图 4 显示, GC-IMS 检测两株菌挥发性物质种类和含量存在明显差异, 共检测出 B-1 挥发性有机物 49 种, D-1 挥发性有机物 34 种。菌体 B-1 中, 酯类物质占比 56.98%, 主要成分 3-甲基乙酸丁酯、3-甲基丙酸丁酯、丙酸 2-甲基丙酯、乙酸 2-甲基-1-丙酯占比 77.13%; 酸类物质占比 6.64%, 主要成分乙酸占比 63.40%, 2-甲基丁酸、2-甲基丙酸以及丁酸占比 20.8%; 醇类物质占比 25.60%, 主要成分 3-甲基丁-1-醇、2-甲基-1-丙醇和乙醇占比 84.45%; 酮类物质占比 7.10%, 主要成分丙酮 48.45%。菌体 D-1 中, 酯类物质 6.52%, 主要成

分 3-甲基乙酸丁酯、3-甲基丙酸丁酯、丙酸 2-甲基丙酯、乙酸 2-甲基-1-丙酯占比 77.91%; 酸类物质占比 18.22%, 主要成分乙酸占比 87.38%, 2-甲基丁酸、2-甲基丙酸以及丁酸占比 15.53%; 醇类物质占比 50.55%, 主要成分 3-甲基丁-1-醇、2-甲基-1-丙醇和乙醇占比 73.89%; 酮类物质占比 19.50%, 主要成分丙酮占比 70.15%。菌体 B-1 和 D-1 中, 同一类别的挥发性物质, 其主要成分种类相似, 但组成占比相差较大。对风味贡献主要的挥发性物质酯类、酸类、醇类和酮类之和占比分别达 96.32%和 94.79%。其中, 挥发性酯类物

质是许多物质果香味的主要贡献者，在风味中发挥着重要作用，可作为饲料诱食成分添加<sup>[13]</sup>；酸类中乙酸、2-甲基丁酸、2-甲基丙酸以及丁酸均属于短链脂肪酸，对于调节肠道 pH，有助于保持

肠道环境稳定，并营养结肠中的其他有益细菌；醇类多贡献酒香、泥土香及蘑菇香气<sup>[14]</sup>。

由此表明，B-1 菌株相比 D-1 菌株具有丰富的风味，可作为一种生产优良风味的酵母饲料菌株。

Wed Sep 27 17:11:57 CST 2023

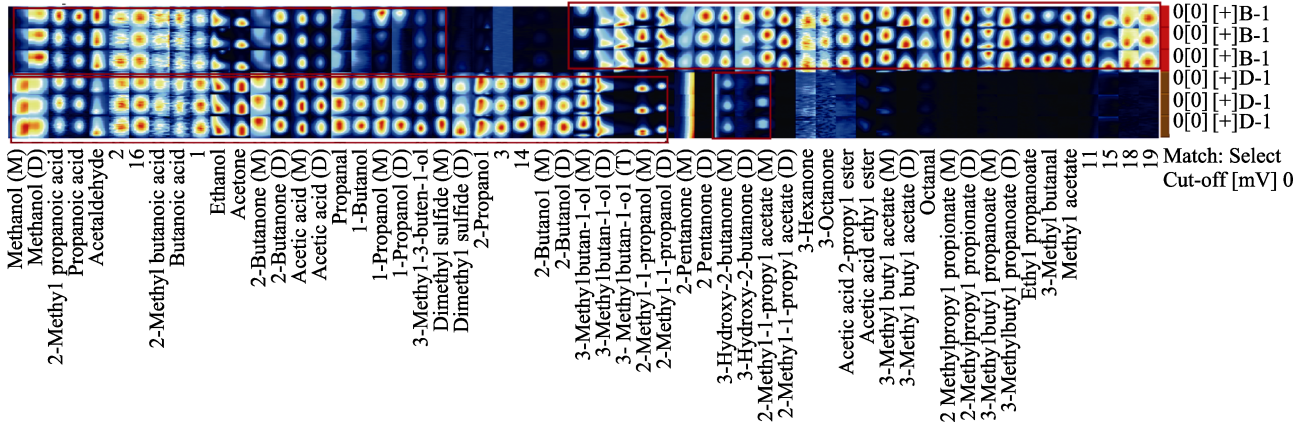


图 4 菌株 B-1 和 D-1 挥发性物质指纹图谱

Fig.4 Fingerprint of volatile substances in bacterial bodies B-1 and D-1

## 2.2 优良耐酸性酵母菌株的生长特征

培养基初始 pH 值对酵母菌 B-1 生长的影响见图 5A。由图可知，pH 值对菌的生长影响差异明显，有较宽的 pH 适应范围，其最适的 pH 值为 5.0，此时达到最大生物量，OD<sub>600 nm</sub> 为 1.305。

培养温度对酵母 B-1 的生长的影响见图 5B。由图可知，酵母菌 B-1 在 30 °C 时生长最好，此时达到最大生物量，OD<sub>600 nm</sub> 为 1.164。

酵母 B-1 的生长曲线见图 5C。由图可知，菌株在 0~8 h 生长速度较慢，为延滞期；在 8~28 h 为迅速生长期，为对数期；之后进入稳定期，OD<sub>600 nm</sub> 达到最大。在生产中延滞期短的菌株适应能力更

强，可在短时间内形成数量优势，减少染菌机会同时减少副产物的形成，有利于提高发酵效率。

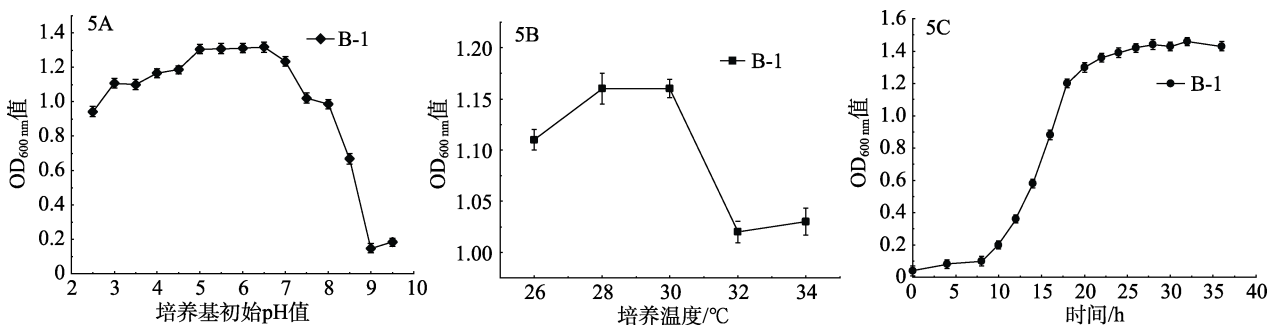
## 2.3 优良耐酸性酵母菌株的抗逆性

### 2.3.1 pH 抗逆性测定结果

酵母 B-1 菌株耐低 pH 实验结果见表 1。pH ≥ 2.0 时，菌株均能够生长，随着发酵时间的延长，菌株的产气量在累积，直到充满杜氏小管。

### 2.3.2 高温抗逆性能测定结果

酵母 B-1 菌株耐盐性能测定结果见表 2。B-1 具有较好的高温抗逆性能，随着温度的增加，B-1 发酵速率减慢，能在温度 ≤ 40 °C 的 YPD 液体培养基中生长。



注：5A：培养基初始 pH 值对 B-1 菌株生长的影响；5B：培养温度对 B-1 菌株生长的影响；5C：生长曲线。

Note: 5A: The effect of initial pH value of the culture medium on the growth of B-1 strain; 5B: The effect of cultivation temperature on the growth of B-1 strain; 5C: Growth curve.

图 5 菌株 B-1 的生长情况  
Fig.5 Growth of strain B-1

表 1 菌株 B-1 对 pH 抗逆性能测定结果

Table 1 Determination Results of pH Stress Resistance of Strain B-1

菌株	pH	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	自然 pH 为 7.0
CK1	6 h	-	-	-	++	++	++
	12 h	-	-	-	++	++++	++++
	18 h	-	-	+	+++	++++	++++
	24 h	-	-	++	+++	++++	++++
B-1	6 h	-	-	+	+++	+++	+
	12 h	-	-	++	++++	++++	++++
	18 h	-	-	+++	++++	++++	++++
	24 h	-	-	++++	++++	++++	++++

注：+、++、+++、++++分别表示产气达到杜氏小管的 1/4、1/2、3/4、全部；-表示产气为零，下同。

Notes: +, ++, +++, +++++ indicate that the gas production reaches 1/4, 1/2, 3/4 and all of the Durham tubes respectively; - means that the no gas production, the same as below.

表 2 菌株 B-1 对温度抗逆性能测定结果

Table 2 Determination results of temperature resistance of strain B-1

菌株	温度/°C	30	35	40	45	50
CK1	6 h	++	+++	++	-	-
	12 h	+++	++++	+++	-	-
	18 h	++++	++++	+++	-	-
	24 h	++++	++++	++++	-	-
B-1	6 h	++	+++	++	-	-
	12 h	+++	++++	+++	-	-
	18 h	++++	++++	+++	-	-
	24 h	++++	++++	++++	-	-

### 2.3.3 耐盐性能测定结果

酵母 B-1 菌株耐盐性能测定结果见表 3。B-1 具有较好的耐盐性能，随着盐浓度的增加，B-1 发酵速率减慢，能在 NaCl 质量浓度 ≤ 70 g/L 的 YPD 液体培养基中生长，具有较好的渗透压抗逆性。

表 3 菌株 B-1 对盐抗逆性能测定结果

Table 3 Determination results of salt stress resistance of strain B-1

菌株	NaCl 浓度/(g/L)	10	30	50	70	空白
CK1	6 h	+	+	-	-	+
	12 h	++	++	-	-	++
	18 h	++++	++++	-	-	++++
	24 h	++++	++++	-	-	++++
B-1	6 h	+	+	-	-	+
	12 h	++	++	-	-	++++
	18 h	++++	++++	+	-	++++
	24 h	++++	++++	++	+	++++

与菌株 CK1 相比，菌株 B-1 的盐抗逆性（渗透压）明显优于 CK1，而低 pH 抗逆性和高温抗

逆性均不低于 CK1 菌株。

### 3 结论

酵母可作为重要的蛋白饲料来源，其含有大量功能性物质，能够促进动物生长、维护动物肠道健康、维持瘤胃功能及缓减饲料中霉菌毒素的危害。但酵母菌在培养的过程中，为了降低成本，常常会遇到酸性强、渗透压高的复杂发酵基质，在酵母饲料加工过程中还需要高温制粒，因此酵母菌株须具备有耐酸、耐高渗透压、耐高温的优良抗逆性能。

本研究筛选得到 1 株耐酸性、耐渗透压、耐高温的高蛋白和风味优良的毕赤酵母菌株，能够在 pH 不低于 2.0、温度不高于 40 °C、盐（NaCl 计）浓度不高于 70 g/L 条件下的培养基中正常生长。在风味方面，该酵母谷氨酸和呈味核苷酸含量较高，产酯能力较强；在抗逆性能方面，优于市售菌株 CK1，可为利用糖蜜、玉米浆等复杂基质生产酵母蛋白提供潜力菌株，促进粮油副产物高值化利用。

### 参考文献：

- [1] 马丽丽. 新时期中国农产品贸易展望与应对[J]. 农业经济, 2023(1): 131-132.  
MA L L. Outlook and response to China's agricultural product trade in the new era[J]. Agricultural Economy, 2023(1): 131-132.
- [2] 何国庆, 贾英明, 丁立孝. 食品微生物学[M]. [第 3 版]. 北京: 中国农业大学出版社, 2016: 10-40.  
HE G Q, JIA Y M, DING L X. Food microbiology[M]. [3rd

- edition] Beijing: China Agricultural University Press, 2016: 10-40.
- [3] 盛周煌, 陈智仙. 酵母多肽的研究进展[J]. 食品科技, 2023, 48(7):198-204.  
SHENG Z H, CHEN Z X. Research progress on yeast peptides[J]. Food Technology, 2023, 48(7): 198-204.
- [4] 耿海波. 优良耐酸酿酒酵母的筛选及发酵特性研究[J]. 中国酿造, 2021, 40(10):152-156.  
GENG H B. Screening and fermentation characteristics of excellent acid resistant brewing yeast[J]. Chinese Brewing, 2021, 40 (10): 152-156.
- [5] WAWRO, ALEKSANDRA. Improvement of acetic acid tolerance in *saccharomyces cerevisiae* by novel genome shuffling[J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2021(57): 180-188.
- [6] TSAI S Y, HSU Y C, SHU C M, et al. Synchronization of isothermal calorimetry and liquid cultivation identifying the beneficial conditions for producing ethanol by yeast *Saccharomyces cerevisiae* fermentation[J]. Journal of thermal analysis and calorimetry, 2020, 142(2): 829-840.
- [7] BARNETT J A. 酵母菌的特征与鉴定手册[M]. 胡瑞卿, 译. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1991.  
BARNETT J A. Handbook of characteristics and identification of yeasts[M]. Hu Ruiqing, translated: Qingdao: Qingdao Ocean University Press, 1991.
- [8] LIMIN M, WEI R, MENGQI S, et al. Characterization of donkey-meat flavor profiles by GC-IMS and multivariate analysis [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10. 10.3389/fnut.2023.1079799.
- [9] GROENEWALD M, BOEKHOUT T, NEUVÉGLISE C, et al. *Yarrowia lipolytica*: safety assessment of an oleaginous yeast with a great industrial potential[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2014, 40(3): 187-206.
- [10] MOURITSEN O G, KHANDELIA H. Molecular mechanism of the allosteric enhancement of the umami taste sensation[J]. Febs Journal, 2012, 279(17): 3112-3120.
- [11] 王伟, 俞志敏, 侯英敏, 等. 产香酵母 *Pichia myanmarensis* LX15 的分离纯化及对精酿啤酒风味物质形成的影响[J]. 微生物学杂志, 2018, 38(4): 34-40.  
WANG W, YU Z M, HOU Y M, et al. Isolation and purification of aroma producing yeast *Pichia myanmarensis* LX15 and its effect on the formation of flavor compounds in craft beer[J]. Journal of Microbiology, 2018, 38 (4): 34-40.
- [12] 董长勇, 于伟厚, 苟亚夫, 等. 核苷酸类食品添加剂的生产与应用研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(22): 345-352.  
DING C Y, YU W H, GOU Y F, et al. Research progress on the production and application of nucleotide food additives[J]. Food and Fermentation Industry, 2022, 48(22): 345-352.
- [13] CAO X, WEI C, DUAN W, et al. Transcriptional and epigenetic analysis reveals that NAC transcription factors regulate fruit flavor ester biosynthesis[J]. The Plant Journal, 2021, 106(3): 785-800.
- [14] 徐丹萍, 过雯婷, 郑振霄, 等. 干贝的营养评价与关键风味成分分析[J]. 中国食品学报, 2016, 16(12): 218-226.  
XU D P, GUO W T, ZHENG Z X, et al. Nutritional evaluation and analysis of the volatile flavor component of dried scallop[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(12): 218-226. 完
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。