

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023 年 11 月 30 日 (30.11.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/226509 A1

- (51) 国际专利分类号:
C12N 1/18 (2006.01) *C12R 1/865* (2006.01)
A21D 8/04 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2023/079577
- (22) 国际申请日: 2023 年 3 月 3 日 (03.03.2023)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202210592367.1 2022年5月27日 (27.05.2022) CN
- (71) 申请人:安琪酵母股份有限公司(ANGEL YEAST CO., LTD) [CN/CN]; 中国湖北省宜昌市城东大道168号, Hubei 443003 (CN)。
- (72) 发明人:孙雅芳(SUN, Yafang); 中国湖北省宜昌市城东大道168号, Hubei 443003 (CN)。肖明华(XIAO, Minghua); 中国湖北省宜昌市城东大道168号, Hubei 443003 (CN)。陈莉婷(CHEN,

Liting); 中国湖北省宜昌市城东大道168号, Hubei 443003 (CN)。郭天芬(GUO, Tianfen); 中国湖北省宜昌市城东大道168号, Hubei 443003 (CN)。王龙(WANG, Long); 中国湖北省宜昌市城东大道168号, Hubei 443003 (CN)。匡金宝(KUANG, Jinbao); 中国湖北省宜昌市城东大道168号, Hubei 443003 (CN)。

(74) 代理人:北京格旭知识产权代理事务所(普通合伙)等(GEXU INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM et al.); 中国北京市海淀区苏州街18号院, Beijing 100080 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE,

(54) Title: YEAST STRAIN FOR FAST-FERMENTING SUGAR-FREE DOUGH AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 一种快发无糖面用酵母菌株及应用

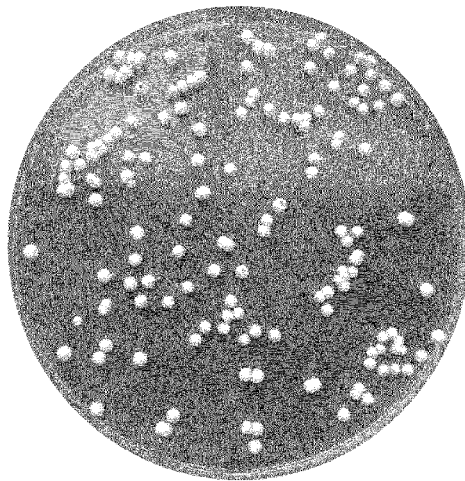


图 1

(57) Abstract: Provided are a yeast strain for fast-fermenting sugar-free dough and use thereof. A saccharomyces cerevisiae AMCC31248 strain provided herein is collected in the China Center for Type Culture Collection (CCTCC), with the collection number of CCTCC No: M 20211686. The saccharomyces cerevisiae AMCC31248 strain provided herein has a good fermentation performance in the sugar-free dough, and can rapidly ferment the sugar-free dough.

(57) 摘要: 提供一种快发无糖面用酵母菌株及应用。提供的酿酒酵母AMCC31248菌株(Saccharomyces cerevisiae AMCC31248)保藏于中国典型培养物保藏中心(CCTCC), 保藏编号为CCTCC NO: M 20211686。提供的酿酒酵母AMCC31248菌株在无糖面团中发酵性能良好, 能够快速发酵无糖面团。



WO 2023/226509 A1

PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括按细则13之二规定在说明书以外提交的关于生物材料保藏的说明(细则13之二.4(d)(i)和48.2(a)(viii))。

一种快发无糖面用酵母菌株及应用

技术领域

本发明涉及微生物领域，具体涉及一种快发无糖面用酵母菌株及应用。

5

背景技术

从最早的商品面包酵母的发现到酵母生产工艺的正式形成，再到现今的活性干酵母发展阶段，酵母产品种类日趋多元化且产品质量不断提高，可应用于不同面食的制作。发酵面食作为一种传统主食在百姓膳食结构中占据着重要地位，据统计现我国约一半的人口以面食为主，且多数是馒头、包子等不加糖面团发酵类面食。从健康的角度出发，不加糖或低糖的面食更能受到消费者青睐。

在面食的制作中，面团的发酵过程始终起着至关重要的作用，不仅影响着面食产品的松软度、口感、营养价值等，而且决定了发面的快慢程度。酵母发酵能力越强，面团起发速度就越快，从而缩短发酵周期，加快面食制作进程，提高工业化大生产效率。因此开发出在无糖面团中发酵性能良好的酿酒酵母菌株有着十分重要的现实意义。

发明内容

在面食的制作过程中常会遇到环境温度过高，造成和面过程中酵母起发过快，引起产品品质下降。为了降低面团的温度，通常加入低温的水来降温，但酵母细胞遇到低温的环境会进入休克状态，从而影响酵母细胞的正常生长。所以对酵母的耐冷渗透休克性能有着迫切需求。

所以，针对现有技术中的酿酒酵母发酵无糖面团效率低及耐冷渗透休克性能差的问题，本发明提供一种具有耐冷渗透休克性能的快发无糖面用酵母菌株。

第一方面，本发明提供一种酿酒酵母菌株，所述酿酒酵母菌株为：

酿酒酵母 AMCC31248 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC31248)，其保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC)，保藏编号为 CCTCC NO: M

20211686。

第二方面，本发明提供一种酿酒酵母菌剂的发酵制备方法，所述方法包含如下步骤：培养所述的酿酒酵母菌株。

优选地，所述制备方法包括如下步骤：

5 (1) 将所述的酿酒酵母菌株放大培养；

(2) 将步骤(1)得到的产物加入到液体培养基中，在 26-32°C 条件下发酵培养。

第三方面，本发明提供一种菌剂，所述菌剂中含有所述的酿酒酵母 AMCC31248 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC31248)。

10 优选地，所述菌剂通过所述的发酵制备方法得到。

第四方面，本发明还提供所述的酿酒酵母菌株或所述的菌剂在发酵中的应用。

第五方面，本发明还提供所述的酿酒酵母菌株所述的菌剂在面团中的应用。

15 第六方面，本发明提供一种面团，所述面团中含有所述的酿酒酵母菌株或所述的菌剂。

优选地，所述面团中含有质量比为 100:0.5-5 的面粉和所述酿酒酵母菌株。

第七方面，本发明还提供所述的面团的制备方法，所述制备方法包括如下步骤：以 0-35°C 的水和面。

20 本发明中 0°C 的水可以为 0°C 的冰或 0°C 的冰水混合物或 0°C 的液体水。

本发明所述的面团的制备过程中，水、面和酿酒酵母可以为任意的加入顺序，如先将面和酵母混匀，然后加入 0-35°C 的水进行和面，也可以先将面粉加入 0-35°C 的水中，再加入酿酒酵母，或者先将酿酒酵母加入到 0-35°C 的水中，然后再加入面粉。

25 第八方面，本发明还提供一种面制品，其通过所述的面团制备方法得到。

优选地，所述面制品为馒头、包子、面包、饼干、面条、锅贴等。

本发明提供的酿酒酵母 AMCC31248 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC31248) 在无糖面团中发酵性能良好，能够快速发酵无糖面团，且具有良好的耐冷渗透休克性能。

30

菌种保藏信息

本发明提供的酿酒酵母 AMCC31248 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae*

AMCC31248) 于 2021 年 12 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC), 保藏编号为 CCTCC NO: M 20211686, 保藏地址: 中国.武汉.武汉大学, 邮政编码: 430072; 电话: 027-68754052。

5 本发明所用的酿酒酵母 AMCC30010 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC30010) 于 2022 年 03 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC), 保藏编号为 CCTCC NO: M 2022340, 保藏地址: 中国.武汉.武汉大学, 邮政编码: 430072; 电话: 027-68754052。

10 本发明提供的酿酒酵母 AMCC32101 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC32101) 于 2022 年 03 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC), 保藏编号为 CCTCC NO: M 2022341, 保藏地址: 中国.武汉.武汉大学, 邮政编码: 430072; 电话: 027-68754052。

附图说明

图 1 所示为酿酒酵母 AMCC31248 菌株的菌落图;
15 图 2 所示为酿酒酵母 AMCC31248 菌株的产孢图;
图 3 所示为亲本和新菌株在麦芽汁培养基中的生长曲线。

具体实施方式

20 本发明以酿酒酵母 AMCC30010 菌株和酿酒酵母 AMCC32101 菌株为亲本, 通过显微杂交的方法获得本发明提供的酿酒酵母 AMCC31248 菌株。

25 酿酒酵母 AMCC30010 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC30010) 菌株是安琪酵母股份有限公司选育的一株酿酒酵母菌种, 该原始菌株从湖北省宜昌市采集得到。通过光学显微镜观察, 该酿酒酵母菌株细胞形态为椭圆形, 出芽生殖, 在固体平板上长出的单菌落呈中央略微凸起的圆球状, 乳白色, 表面光滑, 边缘整齐。通过高倍显微镜进行形态观察及分子生物学鉴定, 确定其为酿酒酵母种 (*Saccharomyces cerevisiae*) 菌株, 是食品属性。于 2022 年 03 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC), 保藏编号为 CCTCC NO: M 2022340 (即 CCTCC M 2022340)。

酿酒酵母 AMCC32101 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC32101) 菌株是

安琪酵母股份有限公司选育的一株酿酒酵母菌种，该原始菌株从内蒙古自治区乌兰察布市采集得到。通过光学显微镜观察，该酿酒酵母菌株细胞形态为椭圆形，出芽生殖，在固体平板上长出的单菌落呈中央略微凸起的圆球状，乳白色，表面光滑，边缘整齐。通过高倍显微镜进行形态观察及分子生物学
5 鉴定，确定其为酿酒酵母种 (*Saccharomyces cerevisiae*) 菌株，是食品属性。于 2022 年 03 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC)，保藏编号为 CCTCC NO: M 2022341 (即 CCTCC M 2022341)。

本发明提供的酿酒酵母 AMCC31248 菌株在无糖面团中发酵性能良好，能够快速发酵无糖面团。

10 一些无糖面包、苏打饼干、馒头等的制作主要是不加糖面团发酵，面粉中大部分是淀粉，它在面粉中淀粉酶作用下转化为麦芽糖，因此酵母利用麦芽糖能力的高低也就决定了不加糖面团起发速度的快慢，酵母的麦芽糖利用酶系包括麦芽糖水解酶和麦芽糖透性酶，具有高麦芽糖利用能力的酵母称之为快速发酵酵母。

15 耐糖酵母是指对含糖面团中的蔗糖具有较高的耐受性，即在含糖面包中的生长和发酵性能较普通酵母都高。

耐低糖酵母是在 7% 左右蔗糖面团体系中使用，耐高糖酵母是在更高蔗糖浓度面团体系中使用，含量可高达 25%。蔗糖一般不能被微生物利用，而酿酒酵母中含有可以降解蔗糖的蔗糖水解酶，它作用于 β -1,2 糖苷键，将蔗糖
20 水解为 D-葡萄糖和 D-果糖，随后葡萄糖和果糖进入糖酵解途径以供酵母利用，同时由于蔗糖的快速分解生成的葡萄糖和果糖会使酵母细胞周围的渗透压增加。酵母细胞膜是一层选择半透性生物膜，外界的浓度高低会影响酵母细胞的活性，当细胞处于渗透压较高的环境中，细胞内的水分和原生质会渗出细胞膜使细胞脱水甚至死亡。因此，酿酒酵母在高糖面团中面临的高渗的环境，对其
25 生长及发酵性能都有影响。因此，无糖酵母的产气能力是由麦芽糖利用酶活力决定，耐糖酵母的产气能力是由蔗糖酶活力决定。

本发明实施例中所用的试剂及仪器来源信息如下表 1、表 2 所示。

表 1 试剂信息表

试剂	出售厂家
----	------

酵母浸粉	安琪酵母
蛋白胨	安琪酵母
葡萄糖	国药沪试
琼脂	惠兴
乙酸钾	国药沪试

表 2 仪器信息表

仪器	型号	出售厂家
恒温摇床	ZWYR-2102C	上海智城
生化培养箱	SPX-150BIII	天津泰斯特
超净工作台	SKJH-1109	上海苏坤
分析天平	ME4002E	METTLER TOLEDO
pH 计	PB-10	Sartorius
恒温水浴锅	HH-2	江苏国华
离心机	DL-5200B	上海安亭
快速水分仪	MJ33	METTLER TOLEDO
PCR 仪	C1000	BIO-RAD
凝胶成像系统	Gel Doc™ XR ⁺	BIO-RAD
电泳仪	EPS-300	上海天能
光学显微镜	CX43	OLYMPUS
全自动生长曲线分析仪	BioscreenC	OY Growth Curves
酵母显微操作仪	MSM 400	SINGER

本发明实施例中所用的产孢培养基的配方为：1% 乙酸钾，0.1% 酵母浸粉，0.05% 葡萄糖，2% 琼脂。

5 本发明实施例中用 YPD 固体培养基对各酿酒酵母菌株进行活化，YPD 固体培养基配方为：1% 酵母浸粉，2% 蛋白胨，2% 葡萄糖，2% 琼脂。

本发明实施例中用 YPD 液体培养基培养各酿酒酵母菌株，YPD 液体培养基配方为：1% 酵母浸粉，2% 蛋白胨，2% 葡萄糖。

实施例 1 菌株构建及鉴定

将亲本菌株酿酒酵母 AMCC30010 菌株和酿酒酵母 AMCC32101 菌株分别活化并诱导产孢，菌体酶解后利用酵母显微操作仪挑取单孢子，并将来自两个不同亲本的单孢子接触，然后置于 30°C 条件下培养。观察孢子的形态，待两个单孢子杂交成功后继续置于 30°C 条件下培养。此为一代菌株。将获得
5 的一代菌株与酿酒酵母 AMCC30010 菌株再进行杂交，得到二代菌株后进行生孢检验，选取杂合菌株进行后续筛选。

利用全自动生长曲线分析仪 Bioscreen C 对杂交获得的杂合新菌株进行生长曲线测定，选取生长效率高于亲本且排名前 20 的杂合菌株。

对得到的生长效率高于亲本的 20 株杂合菌株进行摇瓶发酵试验，以菌株的净干重及其鲜酵母在 0% 糖面团体系中的发酵活力为筛选指标，选取酵母
10 乳净干重能达到任一亲本的 95-105% 且 0% 糖面团发酵活力达到任一亲本的 95%-150% 的杂合菌株。

接着对上述步骤筛选得到的杂合菌株进行 45 L 体系发酵罐培养，将获得的酵母细胞分别制备成活性干酵母，测定活性干酵母在 0% 糖面团体系中的发
15 酵活力，选取在干酵母制备过程中无明显异常情况、活性干酵母的 0% 糖面团发酵活力能达到任一亲本的 95%-120% 的新菌株。

最后对上述步骤优选的杂合菌株进行耐冷渗透休克性能筛选。用 0°C 的碎冰和面，制备含有杂合菌株活性干酵母的 0% 糖生面团，测定面团的醒发时间，以对应面团醒发时间最短的杂合菌株为目的菌株，从而筛选出具有耐
20 冷渗透休克性能的杂合菌株。

经上述筛选得到一株编号为 AMCC31248 的杂合菌株，该菌株在 0% 糖面团中发酵活力较高，且具有良好的耐冷渗透休克性能。对该菌株进行鉴定，鉴定结果为：

光学显微镜下观察到菌株细胞形态为椭圆形，出芽生殖，在固体平板上
25 长出的单菌落呈中央略微凸起的圆球状，乳白色，质地较疏松，易被接种环挑起，表面光滑、较干燥，边缘整齐，图 1 所示为杂合菌株 AMCC31248 的菌落图。

杂合菌株 AMCC31248 的产孢镜检情况如图 2 所示，在显微镜视野中孢子较多且形态较为饱满，表明其具有产孢能力，即为杂合菌株。

将得到的杂合菌株 AMCC31248 命名为酿酒酵母 AMCC31248 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC31248)。该酿酒酵母 AMCC31248 菌株于 2021 年 12 月 29 日保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC)，保藏编号为 CCTCC NO: M 20211686 (即 CCTCC M 20211686)。

5 实施例 2 生长效率测定

将实施例 1 中获得的酿酒酵母 AMCC31248 菌株以及亲本菌株酿酒酵母 AMCC30010 和酿酒酵母 AMCC32101 接种至麦芽汁培养基 (购自海博生物) 中, 30°C 培养 48 h, 通过全自动生长曲线分析仪 Bioscreen C 实现高通量测定各菌株在不同时刻的 OD₆₀₀ 值, 以时间 (h) 为横坐标, 对应的 OD₆₀₀ 值为纵坐标, 绘制生长曲线, 分析试验数据并根据以下公式计算菌株的生长效率。

$$\text{生长效率} = (\text{OD}_2 - \text{OD}_1) / (t_2 - t_1)$$

OD₁: t₁ 时菌株对应的 OD₆₀₀ 值;

OD₂: t₂ 时菌株对应的 OD₆₀₀ 值;

t₁: 对数生长期阶段的起始时刻;

15 t₂: 对数生长期阶段的结束时刻。

酿酒酵母 AMCC31248 的生长曲线图如图 3 所示, 可以看出, 该菌株在麦芽汁培养基中能够快速生长, 下表 3 所示为亲本菌株与酿酒酵母 AMCC31248 菌株的生长效率。

表 3 亲本及新菌株的生长效率数据

菌株名	生长效率
AMCC30010	0.013
AMCC32101	0.017
AMCC31248	0.028

20 由上表 3 可以看出, 获得的酿酒酵母 AMCC31248 菌株的生长效率显著高于亲本菌株酿酒酵母 AMCC30010 和酿酒酵母 AMCC32101。

实施例 3 鲜酵母发酵活力检测

将实施例 1 中获得的酿酒酵母 AMCC31248 接种于装有发酵培养基的摇瓶中, 30°C 条件下培养。离心后收集的沉淀即酵母乳, 称取酵母乳的重量并测定酵母乳的水分。根据以下公式计算得到摇瓶中各菌株的净干重 (g/L):

$$\text{净干重 (g/L)} = \text{酵母乳的重量} \times (1 - \text{水分})$$

按表 4 所示的 0%糖面团体系制备面团以检测酿酒酵母 AMCC31248 菌株发酵活力，计算并称取酿酒酵母 AMCC31248 菌株以及亲本菌株酿酒酵母 AMCC30010 和酿酒酵母 AMCC32101 所需添加的酵母乳的质量，并按照所示的面团配方分别称取面粉、盐和水，在和面机中混合均匀制作出生面团，利用 SJA 发酵仪直接测定由表 4 所示体系制备得到的 280g 面团在 30℃ 条件下经酵母发酵 1h 产生的二氧化碳气体的总体积，即菌株的发酵活力，结果用毫升 (mL) 数表示。

表 4 0%糖面团体系

原料	面粉/g	盐/g	水/g	干酵母/g
加入量	280	4	144	2.8

根据以下公式计算表 5 中净干重相对百分比：

$$\text{净干重相对百分比 (\%)} = (\text{杂合新菌株净干重} / \text{亲本菌株净干重}) * 100\%$$

根据以下公式计算表 6 中酿酒酵母 AMCC31248 菌株相比亲本菌株的面团发酵活力相对百分比：

$$\text{面团发酵活力相对百分比 (\%)} = \text{杂合新菌株的面团发酵活力} / \text{亲本菌株的面团发酵活力} * 100\%$$

如表 5 所示，酿酒酵母 AMCC31248 菌株的净干重分别为亲本菌株酿酒酵母 AMCC30010 和酿酒酵母 AMCC32101 的 95.7%、109.9%，如表 6 所示，酿酒酵母 AMCC31248 菌株鲜酵母的 0%糖面团发酵活力均超过两株亲本，具有 10%左右的优势。

表 5 亲本及新菌株的净干重数据

菌株名	净干重/(g/L)	相对百分比%	相对百分比%
AMCC30010	13.37	100.0	114.8
AMCC32101	11.65	87.1	100.0
AMCC31248	12.80	95.7	109.9

表 6 鲜酵母在 0%糖面团体系中的发酵活力数据

菌株名	0%糖 1h 活力/mL	相对百分比%	相对百分比%
AMCC30010	1050	100.0	103.1
AMCC32101	1018	97.0	100.0
AMCC31248	1145	109.0	112.5

实施例 4 活性干酵母发酵活力检测

将酿酒酵母 AMCC31248 菌株活化培养后进行 45L 体系的发酵罐放大培养，再经分离、洗涤、压滤、干燥得到活性干酵母。按照表 7 所示的面团配方分别称取面粉、盐、水和制备的活性干酵母，利用 SJA 法检测由表 7 所示体系制备得到的面团 280g 经活性干酵母发酵 1h 所产生二氧化碳气体的总量，即活性干酵母的面团发酵活力。

表 7 0%糖面团体系

原料	面粉/g	盐/g	水/g	干酵母/g
加入量	280	4	144	2.8

由于亲本菌株 AMCC32101 在活性干酵母的制备过程中干燥难度较大，无对应的发酵活力数据，所以这里仅以亲本菌株 AMCC30010 的干酵母活力作为对照。酿酒酵母 AMCC31248 菌株在干酵母制备过程中无明显异常情况，其活性干酵母的 0%糖面团发酵活力检测具体数据见表 8。其中，表 8 中的发酵活力相对百分比的计算方法如下所示：

发酵活力相对百分比 = (杂合新菌株发酵活力 / 亲本菌株 AMCC 30010 发酵活力) * 100%

表 8 活性干酵母在 0%糖面团体系中的发酵活力数据

菌株名	0%糖 1h 活力/mL	发酵活力相对百分比 /%
AMCC30010	1016	100.0
AMCC31248	1133	111.5

结果显示，相比于亲本酿酒酵母 AMCC30010 菌株，酿酒酵母 AMCC31248 菌株的活性干酵母在 0%糖条件下的面团发酵活力仍具有 11.5% 的优势，说明酿酒酵母 AMCC31248 菌株具有一定的耐干燥性。

实施例 5 活性干酵母耐冷渗透休克性能检测

按照表 9 所示的面团配方将 0℃ 的碎冰倒入和面机内，加入活性干酵母低速混合，再加入面粉、盐，继续混合搅拌均匀，制备好面团。将 400g 的面团整形后置于醒发箱内发酵，控制温度为 $38 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度为 85-90%，记录面团发酵达到同一设定高度时所需的时间，即发酵时间。

5

表 9 冷渗透休克面团体系

原料	面粉/g	盐/g	干酵母/g	碎冰/g
加入量	100	2	1	63

酿酒酵母 AMCC31248 菌株和亲本酿酒酵母 AMCC30010 菌株对应面团的发酵时间见表 10。其中，表 10 中发酵时间相对百分比计算方法如下所示：

10 发酵时间相对百分比 = (杂合新菌株发酵时间 / 亲本菌株 AMCC30010 发酵时间) * 100%

表 10 活性干酵母在冷渗透休克面团体系中的发酵时间数据

菌株名	发酵时间/min	发酵时间相对百分比/%
AMCC30010	154.3	100.0
AMCC31248	108.0	70.0

结果显示，酿酒酵母 AMCC31248 菌株的发酵时间仅为亲本酿酒酵母 AMCC30010 菌株的 70.0%，具有 30% 的优势，说明在同一条件下，酿酒酵母 AMCC31248 菌株发面更快，具有优良的耐冷渗透休克性能。

15 以上所述仅为本发明的较佳实施例，并不用以限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内，所作的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

权利要求书

1. 一种酿酒酵母菌株，其特征在于，所述酿酒酵母菌株为：
酿酒酵母 AMCC31248 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC31248)，其
5 保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC)，保藏编号为 CCTCC NO: M
20211686。
2. 一种酿酒酵母菌剂的发酵制备方法，其特征在于，所述方法包含如下
步骤：培养权利要求 1 所述的酿酒酵母菌株。
3. 根据权利要求 2 所述的制备方法，其特征在于，所述制备方法包括如
10 下步骤：
 - (1) 将权利要求 1 所述的酿酒酵母菌株放大培养；
 - (2) 将步骤 (1) 得到的产物加入到液体培养基中，在 26-32°C 条件下发
酵培养。
4. 一种菌剂，其特征在于，所述菌剂中含有权利要求 1 所述的酿酒酵母
15 AMCC31248 菌株 (*Saccharomyces cerevisiae* AMCC31248)。
5. 根据权利要求 4 所述的菌剂，其特征在于，所述菌剂通过权利要求 2
或 3 所述的发酵制备方法得到。
6. 权利要求 1 所述的酿酒酵母菌株或权利要求 4 或 5 所述的菌剂在发酵
中的应用。
- 20 7. 权利要求 1 所述的酿酒酵母菌株或权利要求 4 或 5 所述的菌剂在面团
中的应用。
8. 一种面团，其特征在于，所述面团中含有权利要求 1 所述的酿酒酵母
菌株或权利要求 4 或 5 所述的菌剂。
9. 根据权利要求 8 所述的面团，其特征在于，所述面团中含有质量比为
25 100:0.5-5 的面粉和所述酿酒酵母菌株。
10. 根据权利要求 8 或 9 所述的面团的制备方法，其特征在于，所述制备方法
包括如下步骤：以 0-35°C 的水和面。
11. 一种面制品，其通过权利要求 8 或 9 所述的面团制备方法得到。
12. 权利要求 11 所述的面制品，其为馒头、包子、面包、饼干、面条、
30 锅贴。



图 1

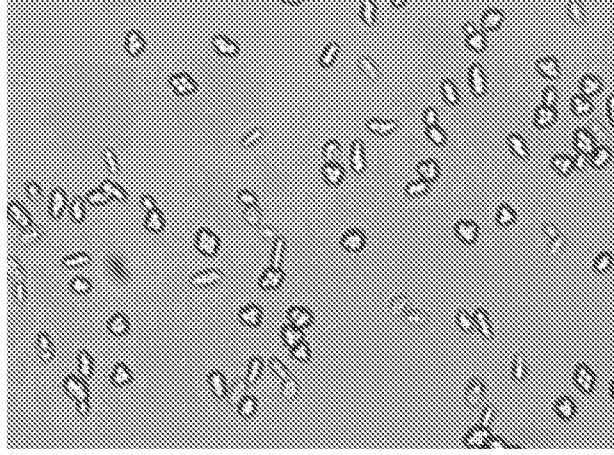


图 2

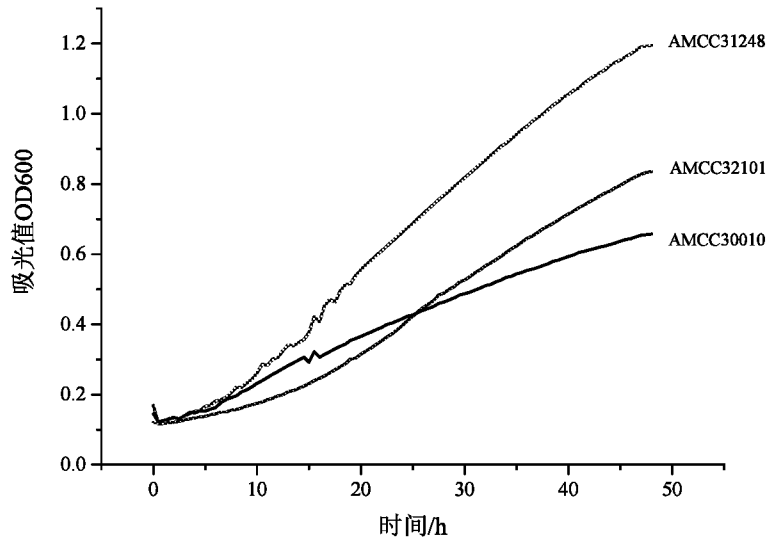


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/079577

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C12N1/18(2006.01)i; A21D8/04(2006.01)i; C12R1/865(2006.01)n		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC: C12N; A21D; C12R		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CJFD, CNABS, CNTXT, DWPI, ENTXT, ENTXTC, VEN, WPABS, WPABSC, CNKI, PUBMED: 耐冷, 耐冷渗透, 渗透休克, 酿酒酵母, AMCC30010, AMCC31248, Saccharomyces cerevisiae, cold resist+, cold shock, dough develop+		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 113355251 A (ANGEL YEAST CO., LTD.) 07 September 2021 (2021-09-07) see claims 1-10, and description, embodiment	1-12
A	JP H07213277 A (NIPPON BEET SUGAR MANUFACTURING CO., LTD.; NATIONAL TAX ADMINISTRATION AGENCY;) 15 August 1995 (1995-08-15) see description, embodiments 5-6	1-12
A	CN 103275881 A (TIANJIN UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 04 September 2013 (2013-09-04) see claims 1-4	1-12
A	US 2019119763 A1 (NEXTFERM TECHNOLOGY LTD.) 25 April 2019 (2019-04-25) see abstract	1-12
A	WO 2012128186 A1 (KANEKA CORP.; IZUMI TAKUYA; TAKATA TAKAHIRO; TAKATA HAYATO;) 27 September 2012 (2012-09-27) see abstract	1-12
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
24 June 2023		06 July 2023
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/079577

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	113355251	A	07 September 2021	None	
JP	H07213277	A	15 August 1995	JP	2943041 B2 30 August 1999
CN	103275881	A	04 September 2013	None	
US	2019119763	A1	25 April 2019	EP	3443127 A1 20 February 2019
				US	11597908 B2 07 March 2023
				KR	20180133485 A 14 December 2018
				KR	102288790 B1 11 August 2021
				RU	2018139496 A 12 May 2020
				RU	2018139496 A3 23 September 2020
				RU	2756307 C2 29 September 2021
				IL	262248 A 29 November 2018
				IL	262248 B 01 June 2022
				JP	2019511241 A 25 April 2019
				BR	112018071207 A2 12 February 2019
				CA	3020653 A1 19 October 2017
				WO	2017178879 A1 19 October 2017
				MX	2018012582 A 04 July 2019
WO	2012128186	A1	27 September 2012	JPWO	2012128186 A1 24 July 2014
				JP	5907161 B2 20 April 2016

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/079577

<p>A. 主题的分类</p> <p>C12N1/18(2006.01)i; A21D8/04(2006.01)i; C12R1/865(2006.01)n</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC: C12N; A21D; C12R</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>数据库: CJFD, CNABS, CNTXT, DWPI, ENTXT, ENTXTC, VEN, WPABS, WPABSC, CNKI, PUBMED 检索词: 耐冷, 耐冷渗透, 渗透休克, 酿酒酵母, AMCC30010, AMCC31248, Saccharomyces cerevisiae, cold resist+, cold shock, dough develop+</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 113355251 A (安琪酵母股份有限公司) 2021年9月7日 (2021 - 09 - 07) 参见权利要求1-10及说明书实施例</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP H07213277 A (NIPPON BEET SUGAR MFG; NAT TAX ADMINISTRATION AGENCY;) 1995年8月15日 (1995 - 08 - 15) 参见说明书实施例5-6</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103275881 A (天津科技大学) 2013年9月4日 (2013 - 09 - 04) 参见权利要求1-4</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2019119763 A1 (NEXTFERM TECH LTD) 2019年4月25日 (2019 - 04 - 25) 参见摘要</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2012128186 A1 (KANEKA CORP; IZUMI TAKUYA; TAKATA TAKAHIRO; TAKATA HAYATO;) 2012年9月27日 (2012 - 09 - 27) 参见摘要</td> <td>1-12</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 113355251 A (安琪酵母股份有限公司) 2021年9月7日 (2021 - 09 - 07) 参见权利要求1-10及说明书实施例	1-12	A	JP H07213277 A (NIPPON BEET SUGAR MFG; NAT TAX ADMINISTRATION AGENCY;) 1995年8月15日 (1995 - 08 - 15) 参见说明书实施例5-6	1-12	A	CN 103275881 A (天津科技大学) 2013年9月4日 (2013 - 09 - 04) 参见权利要求1-4	1-12	A	US 2019119763 A1 (NEXTFERM TECH LTD) 2019年4月25日 (2019 - 04 - 25) 参见摘要	1-12	A	WO 2012128186 A1 (KANEKA CORP; IZUMI TAKUYA; TAKATA TAKAHIRO; TAKATA HAYATO;) 2012年9月27日 (2012 - 09 - 27) 参见摘要	1-12
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
A	CN 113355251 A (安琪酵母股份有限公司) 2021年9月7日 (2021 - 09 - 07) 参见权利要求1-10及说明书实施例	1-12																		
A	JP H07213277 A (NIPPON BEET SUGAR MFG; NAT TAX ADMINISTRATION AGENCY;) 1995年8月15日 (1995 - 08 - 15) 参见说明书实施例5-6	1-12																		
A	CN 103275881 A (天津科技大学) 2013年9月4日 (2013 - 09 - 04) 参见权利要求1-4	1-12																		
A	US 2019119763 A1 (NEXTFERM TECH LTD) 2019年4月25日 (2019 - 04 - 25) 参见摘要	1-12																		
A	WO 2012128186 A1 (KANEKA CORP; IZUMI TAKUYA; TAKATA TAKAHIRO; TAKATA HAYATO;) 2012年9月27日 (2012 - 09 - 27) 参见摘要	1-12																		
国际检索实际完成的日期	2023年6月24日	国际检索报告邮寄日期	2023年7月6日																	
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	授权官员	孙彦珂 电话号码 (+86) 010-62411091																	

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/079577

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	113355251	A	2021年9月7日	无			
JP	H07213277	A	1995年8月15日	JP	2943041	B2	1999年8月30日
CN	103275881	A	2013年9月4日	无			
US	2019119763	A1	2019年4月25日	EP	3443127	A1	2019年2月20日
				US	11597908	B2	2023年3月7日
				KR	20180133485	A	2018年12月14日
				KR	102288790	B1	2021年8月11日
				RU	2018139496	A	2020年5月12日
				RU	2018139496	A3	2020年9月23日
				RU	2756307	C2	2021年9月29日
				IL	262248	A	2018年11月29日
				IL	262248	B	2022年6月1日
				JP	2019511241	A	2019年4月25日
				BR	112018071207	A2	2019年2月12日
				CA	3020653	A1	2017年10月19日
				WO	2017178879	A1	2017年10月19日
				MX	2018012582	A	2019年7月4日
WO	2012128186	A1	2012年9月27日	JPWO	2012128186	A1	2014年7月24日
				JP	5907161	B2	2016年4月20日