

外加肌醇和钙离子对酿酒酵母乙醇发酵的影响

赵宝华 张 莉

(河北师范大学生物系 石家庄 050016)

关键词 乙醇发酵, 酿酒酵母, 肌醇, 钙离子

分类号 Q939.5 **文献标识码** B **文章编号** 0001-6209(1999)02-0174-77

酒精发酵是重要的发酵工业之一, 在传统的酒精发酵过程中, 菌种的酒精发酵浓度低, 原料的利用率和酒精的转化率也低, 能量消耗大, 导致生产效率较差^[1]。近年来国内外许多研究者致力于筛选和构建能产高浓度酒精和耐高浓度酒精的菌种, 并把这些酿酒酵母应用于浓醪发酵生产中, 具有成本低, 节省能量消耗, 提高设备利用率, 减少劳动力和提高酒精产量等优点。因此这种酒精生产的新工艺已受到国内外有关研究者的高度重视^[2,3]。

有关外加肌醇及钙离子对酿酒酵母产酒精能力和耐酒精能力的影响未见报道。池振明等发现酿酒酵母的耐酒精能力与胞内 PI(肌醇磷脂)的含量有一定的相关性, 由于 PI 是由肌醇转化而来, 而 PI 代谢又与胞内钙离子浓度的变化有关^[4]。本研究在精确控制培养基中钙离子和肌醇浓度条件下, 比较系统地研究了外加不同浓度肌醇和钙离子对酿酒酵母生长、产酒精能力和耐酒精能力的影响。

1 材料和方法

1.1 菌株

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae* AS2.109)购于中国科学院微生物研究所。

1.2 培养基

1.2.1 斜面培养基: 麦芽汁培养基。

1.2.2 种子培养基以及测定生长用培养基: 本文参照文献[2], 葡萄糖为 2%。

1.2.3 发酵培养基: 配方参照文献[2], 葡萄糖为 5%。

1.3 实验处理

参照文献[2]和[5]采用微机计算, 精确控制供试钙离子浓度为 0、0.001、0.01、0.1、1 和 10mmol/L; 肌醇浓度分别为 0、10、50、100、150 和 200mg/L。各处理组和实验组均设三个重复。

1.4 分析方法

1.4.1 生长量的测定: 用 721 分光光度计(波长 600nm)比色测定 OD 值, 测定时菌液稀释 10 倍。

1.4.2 产酒精能力的测定: 测定方法参照文献[1], 用称重法计算 CO₂ 的产生量。

1.4.3 耐酒精能力的测定: 要用艾氏发酵管法记录发酵 72h 时 CO₂ 的产生量。

1.4.4 外观糖的测定: 用糖度计(Brix)测定。

1.4.5 残糖含量的测定: 采用 Somigy 法。

2 结果和讨论

2.1 肌醇和钙离子对酿酒酵母生长的影响

2.1.1 肌醇对酿酒酵母生长的影响: 肌醇对酿酒酵母的生长有明显的促进作用, 尤其是培养基中存在

1mmol/L, 钙离子时极显著促进酿酒酵母的生长($p < 0.01$), 单独加肌醇对酿酒酵母的生长也有明显的促进作用($p < 0.05$), 图 1 可见, 肌醇浓度为 150mg/L 时, 酿酒酵母的生长量最高, 肌醇浓度为 200mg/L 时, 酿酒酵母的生长量反而下降。但培养基中加 1mmol/L 钙时, 各相应肌醇浓度下的生长量均高于无钙时的生长量。

2.1.2 钙离子对酿酒酵母生长量的影响:结果如图 2 所示, 钙离子对酿酒酵母生长的影不显著(无肌醇时, $p = 0.1544$, 有 100mg/L 肌醇时, $p = 0.1059$), 在两种情况下, 随钙离子浓度的升高, 酿酒酵母的生长量随之增加, 说明钙离子对酿酒酵母的生长有轻微刺激作用。但加入 100mg/L 肌醇时, 各钙离子浓度下酿酒酵母的生长量均高于无肌醇时的生长量。

2.2 肌醇和钙离子对酿酒酵母产酒精能力的影响

2.2.1 钙离子对酿酒酵母产酒精能力的影响:钙离子对酿酒酵母产酒精能力有明显的影响($p < 0.05$), 钙离子浓度在 0~10mmol/L 范围内, 随钙离子浓度的增加, CO_2 的生成量明显增加, 糖度 (Glucose degree, 简称 GD) 和残糖 (Surplus glucose, 简称 SG) 明显下降, 钙离子浓度为 10mmol/L 时, 产酒精能力最强(图 3 和图 4)。培养基中加入 100mmol/L 肌醇时, 各钙离子浓度下 CO_2 的生成量与无肌醇时相差无几, 而糖度和残糖比无肌醇时稍低。

2.2.2 肌醇对酿酒酵母产酒精能力的影响:肌醇对酿酒酵母产酒精能力的影响不显著($p = 0.3965$), 结果如表 1 所示, 无论培养基中是否加钙离子, 随肌醇浓度的增加, CO_2 的生成量、糖度和残糖变化不大; 加钙时各肌醇浓度下 CO_2 的生成量明显高于无肌醇时的情况。

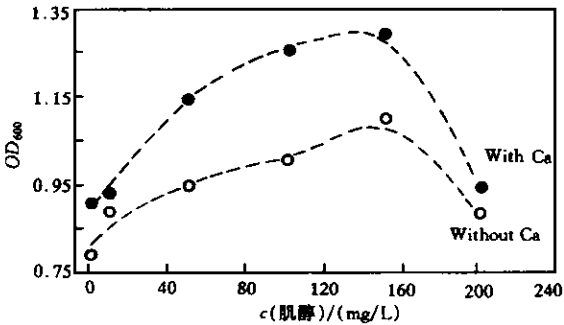


图 1 肌醇对酿酒酵母生长量的影响
起始菌体密度为 6.95×10^5 个/mL, 培养时间为 48h。

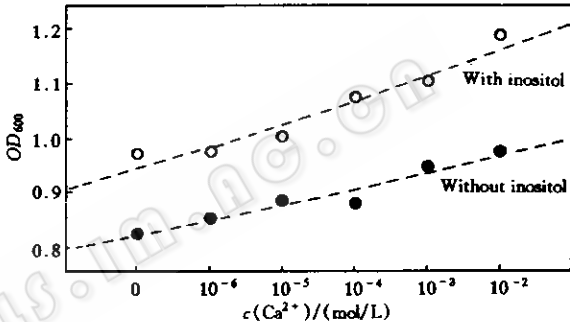


图 2 钙离子对酿酒酵母生长量的影响
起始菌体密度为 7.25×10^5 个/mL, 培养时间为 48h。

表 1 外加肌醇对酿酒酵母产酒精能力的影响

肌醇浓度/(mg/L)	0	10	50	100	150
无钙时 CO ₂ 的生成量/g	1.23	1.26	1.20	1.19	1.14
有钙时 CO ₂ 的生成量/g	1.91	2.09	2.12	1.98	1.95
无钙时残糖量/%	2.54	2.45	2.63	2.78	2.84
有钙时残糖量/%	0.16	0.14	0.12	0.17	0.16

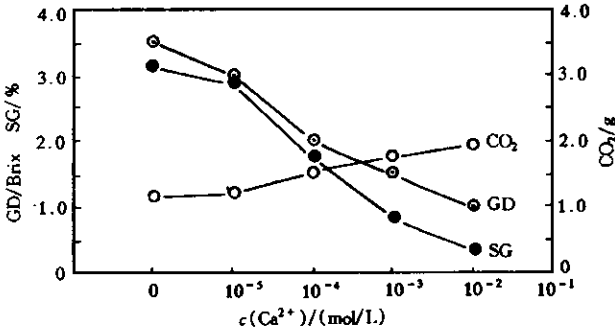


图 3 培养基中无肌醇时钙离子对产酒精能力的影响
起始糖度为 4.75, 葡萄糖含量为 4.5%。

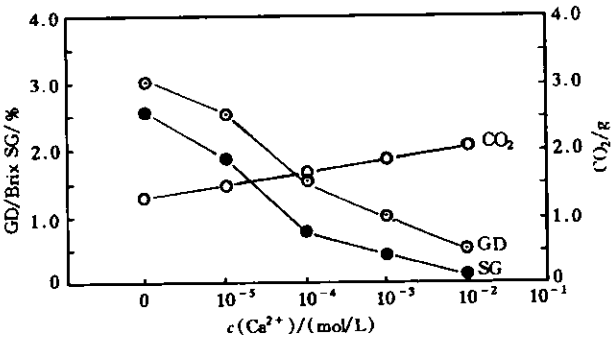


图4 培养基中有肌醇时钙离子对产酒精能力的影响起始糖度为4.75,葡萄糖含量为4.5%。

表2 外加肌醇对酿酒酵母耐酒精能力的影响

肌醇浓度/(mg/L)	0	10	50	100	150	200
酒精度为12%且无钙时的CO ₂ 量/mL	3.13	4.20	5.10	6.50	7.35	8.03
酒精度为12%且有钙时的CO ₂ 量/mL	3.45	4.87	6.50	7.00	7.80	8.80
酒精度为14%且无钙时的CO ₂ 量/mL	0.12	0.25	0.30	0.35	0.47	0.52
酒精度为14%且有钙时的CO ₂ 量/mL	0.30	0.35	0.47	0.53	0.60	0.78

表3 外加肌醇对酿酒酵母耐酒精能力的影响

$c(\text{Ca}^{2+}) / (\text{mol/L})$	0	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
酒精度为12%且无肌醇时的CO ₂ 量/mL	2.23	3.17	4.70	6.00	7.03	5.20
酒精度为12%且有肌醇时的CO ₂ 量/mL	2.53	3.35	4.90	6.20	7.47	5.80
酒精度为14%且无肌醇时的CO ₂ 量/mL	0.10	0.13	0.15	0.20	0.22	0.15
酒精度为14%且有肌醇时的CO ₂ 量/mL	0.10	0.15	0.20	0.23	0.25	0.18

2.3 肌醇和钙离子对酿酒酵母耐酒精能力的影响

利用艾氏发酵管法测定了培养基中含12%、14%和16%酒精时不同浓度肌醇和钙离子对酿酒酵母耐酒精能力的影响。结果表明:培养基中酒精度为12%和14%时肌醇和钙离子对酿酒酵母耐酒精能力均有明显的影响($p < 0.05$);但培养基中酒精度为16%时,72h后无CO₂气体产生,说明该菌种不耐16%的酒精度。

2.3.1 肌醇对酿酒酵母耐酒精能力的影响:外加肌醇对酿酒酵母耐酒精能力有明显的影响(表2),外加肌醇浓度为200mg/L时,CO₂气体的生成量最多,加1mmol/L钙时,相应肌醇浓度下CO₂气体的生成量比无钙时稍高,培养基中酒精度为12%时,CO₂气体的生成量极明显高于14%酒精含量条件下的CO₂气体的生成量($p < 0.01$)。

2.3.2 钙离子对酿酒酵母耐酒精能力的影响:外加钙离子对酿酒酵母耐酒精能力的影响也比较显著(表3),钙离子浓度为1mmol/L时,CO₂气体的生成量最多,外加100mg/L肌醇时,相应钙离子浓度下CO₂气体的生成量比无肌醇时稍高,培养基中酒精度为12%时,CO₂气体的生成量极明显高于14%酒精含量条件下的CO₂气体的生成量($p < 0.01$)。

3 讨论

上述结果较系统地研究了外加肌醇和钙离子对酿酒酵母乙醇发酵的影响,外加钙离子对酿酒酵母生长的影响不显著($p = 0.1544$),袁生等人的工作结果也表明钙离子与芽殖酵母的生长无关,但随钙离子浓度的增加,酿酒酵母的生长量也增加,说明钙离子对酿酒酵母的生长有轻微刺激作用;外加钙离子对酿酒酵母产酒精能力和耐酒精能力有显著的影响($p < 0.05$),最适钙离子浓度为10mmol/L,张书祥等人的研究结果也发现,添加无机盐氯化钙的浓度为0.075%(约7mmol/L)时,30℃发酵72h的酒精度最高^[6]。外加肌醇对酿酒酵母生长和乙醇发酵的影响未见报道,本工作结果表明,外加肌醇对酿酒酵母产酒精能力的影响不显著($p = 0.393$),但对酿酒酵母的生长及耐酒精能力的影响显著($p < 0.05$),池振明等发现酿酒酵母的耐酒精能力与胞内肌醇磷脂的含量有密切关系。无论是在外加肌醇的基础上添加不

同浓度钙离子,还是在外加肌醇的基础上添加不同浓度肌醇,酿酒酵母的生长、产酒精能力和耐酒精能力都优于单加肌醇和单加钙离子时指标。

参 考 文 献

- [1] 池振明. 生物工程学报, 1995, 11(3): 228~230.
- [2] Chi Zhenming. *The world Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1994, 15(8): 135~145.
- [3] 池振明. 食品与发酵工业, 1995(4): 80~84.
- [4] 孙大业, 郭艳林. 细胞信号系统, 北京: 科学出版社, 1993.
- [5] 赵宝华, 孙大业. 植物生理学通讯, 1996, 32(1): 33~35.
- [6] 张书香, 肖亚中, 任杰等, 生物学杂志, 1997, 14(75): 23~25.

THE EFFECTS ON ETHANOL FERMENTATION OF *SACCAROMYCES CEREVISIAE* BY ADDING Ca^{2+} AND INOSITOL

Zhao Baohua Zhang Li

(HeBei Normal University, Shijiazhuang 050016)

Abstract In this paper we report the effects of Ca^{2+} and inositol upon growth, ethanol fermentation and ethanol tolerance of *Saccaromyces cerevisiae*. The result shows that by adding inositol has notable effects on growth and ethanol tolerance of *Saccaromyces cerevisiae* ($p < 0.05$), but has little effects on ethanol fermentation ($p = 0.3933$). By adding Ca^{2+} has remarkable effects on ethanol fermentation and ethanol tolerance ($p < 0.05$), but has little effect on yeast growth ($p = 0.1544$). By means of adding Ca^{2+} and inositol has more effects on the growth, ethanol fermentation and ethanol tolerance than the condition of only adding Ca^{2+} or inositol separatly.

Key words Ethanol fermentation, *Saccaromyces cerevisiae*, Inositol, Ca^{2+}