麦角甾醇与酒精酵母耐性之间的关系

所丽娜,肖冬光,郭学武,张 昕
(天津科技大学天津市工业微生物重点实验室,天津 300457)

摘 要: 研究麦角甾醇与酵母耐性之间的关系,比较了酒精冲击及高渗条件下 3 株酿酒酵母的麦角甾醇含量。结果表明,麦角甾醇与酵母的耐酒精及耐高渗能力有一定的相关性,耐性好的酵母其麦角甾醇含量较高。

关键词: 麦角甾醇; 酿酒酵母; 耐酒精; 耐高渗
中图分类号: Q946.48; Q93- 3; TS261.1 文献标识码: A 文章编号: 1001- 9286(2008) 09- 0027- 03

Relationship between Ergosterol and Saccharomyces cerevisiae Tolerance

SUO Li-na, XIAO Dong-guang,GUO Xue-wu and ZHANG Xin
(Tianjin Industrial Microbiology Key-lab,Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457,China)

Abstract: The relationship between ergosterol and saccharomyces cerevisiae tolerance were studied. Ergosterol content in three saccharomyces cerevisiae strains were compared under the effects of ethanol stress and high osmotic pressure. The results indicated that ergosterol content was correlated with ethanol tolerance and osmotolerance of saccharomyces cerevisiae strains. The strains with good tolerance had higher ergosterol content.

Key words: ergosterol; saccharomyces cerevisiae; ethanol tolerance; osmotolerance

麦角甾醇是酵母细胞膜脂质的一种重要组成成分,与酵母酒精耐性密切相关[1~2]。在酒精刺激条件下,酵母通过增加麦角甾醇含量抵抗酒精对细胞膜的破坏作用,维持细胞膜正常的渗透性[3]。Inoue 研究发现,当 erg6 基因缺失时,酵母细胞膜麦角甾醇含量下降,细胞对酒精的敏感度增加[4]。另外,在培养基中添加一定量的麦角甾醇可以促进酵母生长,提高酵母酒精产量及其酒精耐性[5~6]。

在酒精浓醪发酵过程中,高浓度酒精以及酒糟清液回流造成的高渗透压导致发酵速率降低,发酵时间延长,最终使得酒精产量下降[7]。因此,提高酵母耐性成为酒精浓醪发酵的关键。目前,关于酵母耐渗机制的研究主要集中在海藻糖、甘油等物质在细胞渗透调节中的作用,而对麦角甾醇与酵母耐高渗关系的报道甚少。鉴于此,本文比较了酒精耐受能力不同的酵母在酒精冲击及高渗条件下细胞膜麦角甾醇的含量,进而探讨了麦角甾醇与酵母耐酒精和耐高渗能力之间的关系。

1 材料与方法

1.1 菌株和培养基

酿酒酵母 (Saccharamyces cerevisiae) AY- 12、AY- 15、M3,本研究室保存。

一级种子培养基: 8 Bix 玉米水解液,酵母粉 0.5 %。

二级种子培养基: l2 Bix 的玉米水解液, 酵母粉 0.5 %。

发酵培养基: 22 Bix 玉米水解液, 酵母粉 0.3 %, 硫酸铵 0.2 %, 高渗发酵培养基补加 3 %的 NaCl。

1.2 实验方法

1.2.1 酒精冲击实验

将种子液按 10 %接入发酵培养基中, 培养 12 h 后添加一定量的酒精,冲击 2~8 h,取样用美兰染色法测定细胞存活率[8],冲击结束后,离心收集酵母细胞,测定麦角甾醇含量。

1.2.2 高渗发酵实验

在高渗条件下,发酵一定时间后收集酵母细胞测定麦角甾醇含量,发酵结束测定酒精度[9]。

1.3 麦角甾醇的测定

取适量发酵液,离心洗涤 2 次得酵母泥,经真空冷冻干燥机冻干,即得干酵母粉。称取 0.2 g 干酵母粉,置于 250 mL 碘量瓶中,加醇碱溶液(20 % NaOH 无水乙醇 =5∶3, v/v)32 mL, 85~90 ℃水浴皂化 1.5 h,再加 4 mL 无水乙醇继续皂化 1 h,皂化结束后冷却至室温,加 50 mL

基金项目:天津市科技发展计划(06YFGZSH00500)、国家 863 计划(2006AA020101)资助项目。
收稿日期: 2008- 06- 17
作者简介:所丽娜(1982-),女,山东人,硕士研究生,研究方向为现代酿造技术。
通讯作者:肖冬光(1956-), xdg@tust.edu.cn。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

乙醚,充分振荡 15 min,静置 2 h 分层。取 1 mL 上清液于 10 mL 容量瓶中,用无水乙醇定容,紫外分光光度计测定吸光度(A_{282}),再根据事先制订的标准曲线计算出麦角甾醇的含量。

2 结果与分析

2.1 酒精发酵过程中酒精产量、细胞存活率及麦角甾醇含量的变化

酒精发酵过程,当酒精浓度超过酵母耐受能力时,酵母生长及发酵性能受到抑制[10]。图 1 是酒精酵母 AY-15 在发酵过程中酒精产量、细胞存活率及麦角甾醇含量的变化情况。

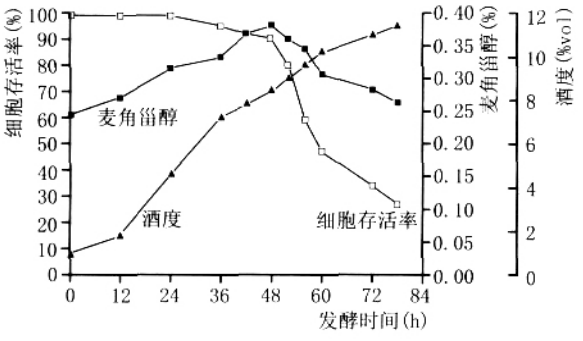

图 1 AY-15 发酵过程中酒精产量、细胞存活率及麦角甾醇含量的变化

由图 1 可知,在发酵过程中,随着酒精浓度的增加,麦角甾醇含量随之增加,发酵至 48 h 时达到最大,在此期间细胞存活率维持在 90 %以上;当酒精浓度超过 9 %时,麦角甾醇含量开始下降,细胞存活率也大幅降低,至发酵结束时细胞存活率降至 25 %。

2.2 不同菌株酒精耐性与麦角甾醇含量的关系

2.2.1 酒精冲击对酵母生长的影响

由于发酵过程中酒精浓度的增加影响酵母细胞的生长状态,因此酵母存活率可以作为评价酵母酒精耐性的一个标准[11]。本实验在添加 6 %酒精条件下,比较酿酒酵母 AY-12、AY-15 和 M3 的生长情况,见图 2。

图 2 结果表明,AY-15 的酒精耐受能力最强,AY-12 次之,而 M3 受酒精冲击的影响最大,尤其当处理时间超过 4 h,细胞存活率明显下降。考虑到酒精对酵母生长的影响,确定酒精冲击时间为 4 h。

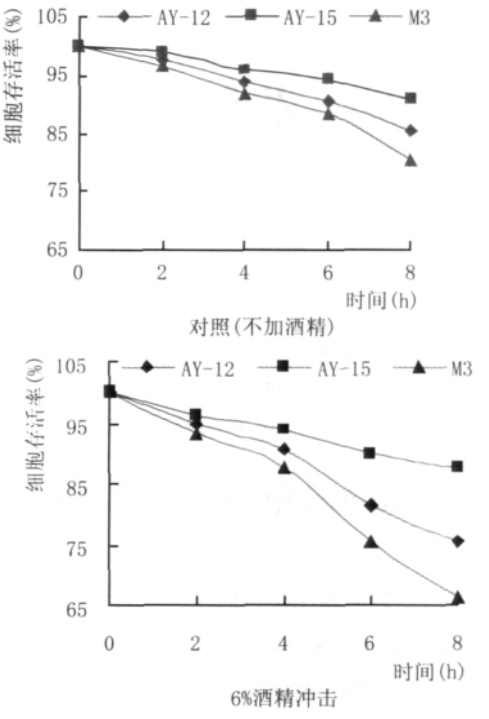

图 2 酒精冲击对不同酵母细胞存活率的影响

2.2.2 酒精冲击条件下不同菌株麦角甾醇含量的比较

考察了酒精冲击条件下,不同酵母麦角甾醇含量的变化,结果见图 3。由图 3 可知,在酒精刺激条件下,3 株酵母的麦角甾醇含量均有所提高,而且耐性较好的菌株 AY-15 的麦角甾醇含量及其增加幅度明显高于其他 2 株酵母。

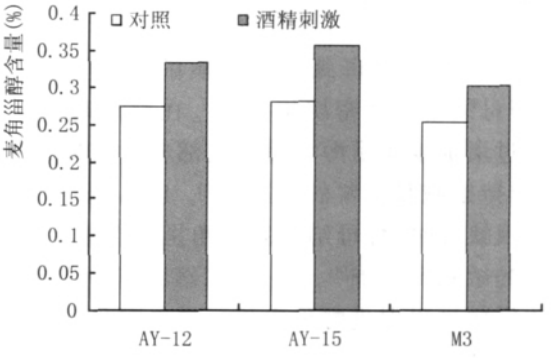

图 3 酒精冲击条件下不同酵母麦角甾醇含量的比较

2.3 不同菌株耐高渗能力与麦角甾醇含量的关系

以 3 %NaCl 作为渗透压调节剂,比较了高渗发酵条件下 AY-12、AY-15 和 M3 的产酒能力及麦角甾醇含量。

通过分析 AY-15 的发酵过程可知(见图 1),当发酵至 48 h 时麦角甾醇含量最高,因此确定发酵 48 h 为高渗条件下麦角甾醇含量的测定时间。

表 1 高渗条件下 3 株酵母产酒能力及麦角甾醇含量的比较

菌株	麦角甾醇含量(%)		产酒量(%)	
	对照	高渗	对照	高渗
AY-12	0.356	0.412	11.0	4.6
AY-15	0.350	0.430	11.6	5.1
M3	0.335	0.392	10.0	3.2

由表 1 可知,高渗条件对酵母麦角甾醇的合成有刺

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

激作用，AY-12、AY-15 和 M3 的麦角甾醇含量分别增加了 15.7%、22.9%、17.0%，可见 AY-15 的增加幅度明显高于其他 2 株菌。而通过比较 3 株酵母在不同条件下的产酒能力，虽然在高渗条件下酵母的发酵性能受到抑制，但 AY-15 的产酒量明显高于 AY-12 和 M3，说明 AY-15 的耐渗能力最强。可见麦角甾醇与酵母耐渗能力有一定的相关性，较高的麦角甾醇含量对高渗条件下酵母细胞的酒精发酵有一定保护作用。

3 结论

酵母的耐性机制不是单因素决定的，而是各种因子相互作用来调整细胞结构及功能以适应外界胁迫的环境[12]。本实验探讨了麦角甾醇与酵母耐性的关系，在相同条件下，AY-15 的麦角甾醇含量总是高于 AY-12 和 M3，说明酵母耐性能力与其细胞膜麦角甾醇的含量有关，麦角甾醇在酵母耐酒精以及耐高渗能力中起着重要作用。因此在选育高产酒精酵母时，可以将酵母麦角甾醇含量作为一个重要的筛选指标。

参考文献：

[1] Swan T M, Watson K. Stress tolerance in a yeast sterol auxotroph: role of ergosterol, heat shock proteins and trehalose[J]. FEMS Microbiol Lett, 1998, 169: 191-197.

[2] Alexandre H, Rousseaux I, Charpentier C .Relationship between ethanol tolerance, lipid composition and plasma membrane fluidity in Saccharomyces cerevisiae and Kloeckera opiculata[J]. FEMS Microbiol. Lett. 1994,124: 17-22.

[3] Aguilera, F,R. A. Peinado, C. Millan, J. M. Ortega and J. C. Mauricio.Relationship between ethanol tolerance, H+-ATPase activity and the lipid composition of the plasma membrane in different wine yeast strains[J]. Int J Food Microbiol.2006, 110 (1): 34-42.

[4] Inoue, T., Iefuji, H., Fujii, T., Soga, H., and Satoh, K.Cloning and characterization of a gene complementing the mutation of an ethanol-sensitive mutant of sake yeast[J]. Biosci. Biotechnol. Biochem.2000, 64, 229-236.

[5] Ghareib, M, K. A. Yousef, and A. A. Khalil. Ethanol tolerance of Saccharomyces cerevisiae and its relationship to lipid content and composition[J]. Folia Microbiol. 1988,33: 447-452.

[6] Hayashida, S., and K. Ohta. Effects of phosphatidylcholine or ergosteryl oleate on physiological properties of Saccharomyces sake[J]. Agric. Biol. Chem. 1980,44: 2561-2567.

[7] 肖冬光，等.酒精废液回用理论的探讨[J].酿酒科技，2001，108 (6): 76-78.

[8] 杜连祥.工业微生物学实验技术[M].天津：天津科学技术出版社，1992.28-29.

[9] 王福荣.酿酒分析与检测[M].北京：化学工业出版社，2005.

[10] A.N.格拉泽，等著. 陈守文，等译.微生物生物技术[M].北京：科学出版社，2002.

[11] G.P.Casey,W.M.Ingledew. Ethanol tolerance in yeasts[J].CRC Crit.Rev. Microbiol. 13: 33, 219-280.

[12] 杨建刚，等.酿酒酵母酒精耐性研究进展[J].酿酒科技，2006，(11)：86-89.

我国将制订和发布“工业设计产业政策”

本刊讯：从有关部门了解到，今年将按照国务院《促进产业结构调整暂行规定》的要求，完成《产业结构调整指导目录（2005 年本）》的修订工作，并尽快完成“工业设计产业政策”的制订和发布。

工业和信息化部还将在主要工业领域组织开展“用信息技术改造提升传统工业的政策措施建议”的课题研究，开展通信业产业政策研究，组织专题调研，深入了解生产性服务业发展的现状和问题，研究拟订促进发展的政策措施。

拟订并组织实施工业、通信业产业政策是工业和信息化部的一项重要职责。据了解，工业和信息化部将通过研究、拟订、实施工业、通信业产业政策，综合运用国家法律、经济和行政手段调整资源配置，引导社会投资方向，规范企业经营行为，促进以先进适用技术改造提升传统产业，推动信息化和工业化融合，实现转变经济发展方式、走新型工业化道路的战略目标。（小凡）

中国西部国际博览会 10 月开幕

本刊讯：因地震而延期的第九届中国西部国际博览会将于 2008 年 10 月 27 日～10 月 31 日在成都市世纪城新国际会展中心拉开帷幕。

西博会组委会办公室主任、四川省人民政府副秘书长乔仁毅介绍，本届西博会将原来的 9 大专业展馆变更为 2 个综合性展馆和 4 个专业性展馆。而且结合灾后重建商机这一主题，新增“民营企业灾后产业发展论坛”、“四川灾后重建项目国际合作洽谈会”和“跨国公司灾后重建座谈会”等一系列紧贴灾后恢复重建的活动。

同时，为突出西部共办共赢的主旨，本届西博会还将举办“中国西部国际合作论坛”、“中国西部 12 省区市及新疆生产建设兵团投资说明会暨经济合作项目签约仪式”等重大活动，给西部各省区市和新疆生产建设兵团提供展示各自投资环境、重大项目和投资成果的平台。

届时，将有境外客商 1 万人，国内客商 3 万余人，专业观众 5 万人参展和参观。（江砂）

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net