

植酸对黄酒酵母菌607生长和 发酵性能影响的研究

夏艳秋¹, 朱 强², 汪志君¹

(1.扬州大学生物科学与技术学院,江苏 扬州 225009 2.淮海工学院,江苏 连云港 222005)

摘要: 添加植酸于黄酒酵母生长发酵基质中,研究植酸对黄酒酵母生长和发酵的影响,得出如下结论:(1)最适植酸添加浓度为0.10%,至主发酵结束,酒精度最大可提高13.16%;(2)植酸能促进黄酒酵母细胞增殖,使酵母提前进入对数生长期,提高出芽率,降低死亡率,并表现出较好的同步性,从而加快发酵速度;(3)植酸使黄酒酵母的耐酒精度从16%提高到20%;(4)黄酒醪中添加植酸,发酵周期缩短且各项理化指标均有较大改善,从而提高了黄酒产量和质量。

关键词: 植酸; 黄酒; 酵母菌; 生长; 发酵

中图分类号: T262.4; TS261.1; TQ920

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2004)01-0028-03

Studies on Effects of Phytic Acid on the Growth and Fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* 607

XIA Yan-qiu¹, ZHU Qiang² and WANG Zhi-jun¹

(1. College of Bioscience and Biotechnology of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

Abstract: Phytic Acid (PA) was added into the culture broth for researching the effects of PA on the growth and fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* 607. The conclusions follows: (1) The optimum PA concentration was 0.10%, alcoholic strength could raised 13.16% markedly at the end of fermentation; (2) PA accelerated yeast proliferation and advanced exponential phase, raise gemmating rate, reduced death rate, and enspeed fermentation rate; (3) Adding PA, the alcohol tolerance of yeast advanced from 16% to 20%; (4) PA shortened fermentation cycle period, improved yellow rice wine ingredients, and increased yield and quality.

Key words: Phytic acid (PA); Chinese rice wine; yeast; growth; fermentation

植酸 (Phytic Acid, PA) 又名肌醇六磷酸, 是维生素B族一员, 是一种新型食品添加剂^[1]。由于其特殊的环状结构和极强的螯合效应, 决定了植酸在食品、医药、化工和环保等方面的特殊生理和药理作用^[2-5]。在发酵工业, 植酸作为促酵剂, 用于提高菌体繁殖速度, 增加产物的量及提高原料的利用率, 近年来引起越来越多专家的注意^[6,7]。植酸用于霉菌类已有报道^[8], 将植酸对黄酒酵母生长和发酵性能的影响的试验研究报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

菌种: 黄酒酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 607, 扬州大学生物科学技术学院微生物实验室保藏菌种。

斜面活化培养基: 12°Bx新鲜麦芽汁, 2%琼脂。

液体发酵培养基: 16°Bx新鲜糖化米汁^[9]。

种子扩培及生长曲线用培养基: 12°Bx新鲜麦芽汁。

以上培养基用磷酸调节至pH3.9~4.1, 108℃高压灭菌15~20 min。

麦曲、大麦芽: 取自丹阳黄酒厂。

植酸: 嘉善巨枫化工厂, 含量≥70%, 分析纯。

其他试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 不同植酸浓度对黄酒酵母菌发酵的影响

300 ml三角瓶中分装液体发酵培养基150 ml, 分别加不同量植酸, 调配成终浓度为0.06%、0.10%、0.14%、0.18%、0.22%的植酸发酵液, 用4% HCl或4% NaOH调节至pH3.9~4.1, 接入1%酵母菌种子液, 30℃恒温发酵, 定时测定各项理化指标。

1.2.2 植酸对黄酒酵母菌增殖的影响

1000 ml三角瓶中装麦芽汁500 ml, 调配成最佳植酸浓度, 接入1%酵母菌种子液, 30℃恒温发酵, 每隔2 h取液计数细胞数。

1.2.3 植酸对黄酒酵母菌耐酒精度的影响

150 ml糖化米汁中加入一定量的无水乙醇配制含14%、16%、18%、20%、22%酒精的发酵液, 用水补足至发酵液体积相等。然后调整植酸最佳浓度, 并用4% HCl或4% NaOH调节至pH3.9~4.1, 接入1%酵母菌种子液, 30℃恒温发酵, 每天测定CO₂失重^[10]。

1.2.4 植酸对成品黄酒的影响

糯米100 g, 纯种麦曲15 g, 酒母接种量10%, 加水后总控制量为330 g, 调配成最佳植酸浓度。29℃主酵5 d, 15℃后酵20 d, 过滤, 澄清。测定成品黄酒各项理化指标。

1.3 测定方法

收稿日期: 2003-06-09

作者简介: 夏艳秋 (1978-), 女, 江苏徐州人, 研究生, 发表论文数篇。

见文献[11] ;细胞形态及大小测定见文献[10]。

2 结果与分析

2.1 不同植酸浓度对黄酒酵母菌发酵的影响

不同植酸浓度对酵母菌发酵过程中的酒精度、同化碳源速度、同化氮源速度的影响分别见图1~图3。

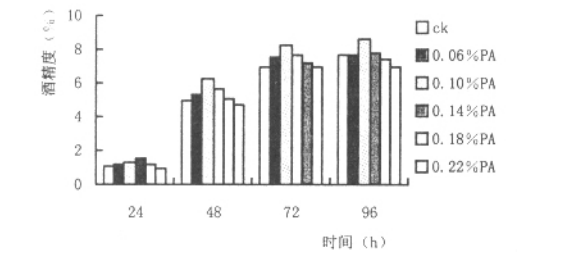


图1 植酸对酵母菌产酒精度影响

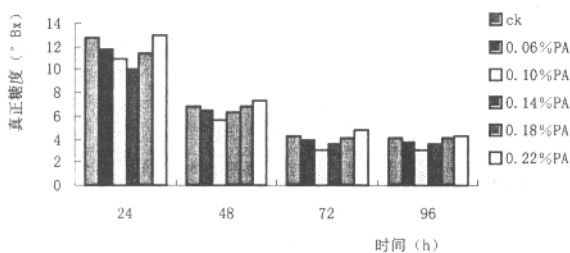


图2 植酸对酵母菌同化碳源速度的影响

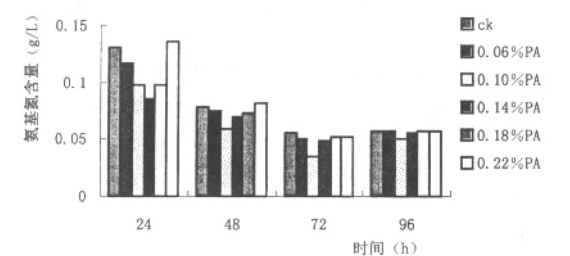


图3 植酸对酵母菌同化氮源的影响

由图1~图3可知 ,加入低浓度植酸后 ,黄酒酵母产酒速度及同化碳源和氮源速度比对照明显加快。整个发酵过程 ,高浓度的植酸都抑制酵母菌发酵。在发酵48 h以前 ,添加0.14 %的植酸 ,发酵液真正糖度几乎成直线下降 ,此阶段 ,除发酵产酒外 ,酵母菌主要是大量增殖 ,同时消耗氮素营养。48 h以后 ,0.10 %的植酸则为最佳浓度。至主酵结束 (96 h) ,添加0.10 %植酸的发酵液的酒精度和真正发酵度分别为8.6 % (v/v) 和81.25 % ,分别比同期对照提高13.16 %和6.44 % ;而真正糖度和氨基氮则分别为3.00°Bx和0.050 g/L ,分别比同期对照降低25.56 %和13.79 %。

植酸是一种非离子型表面活性剂 , 积累在酵母菌细胞膜的表面 ,可以改善氧的通透性及物质传递性 ,从而加快菌体繁殖速度 ,进而加快营养物质的消耗及产物的生成和分泌^[12]。同时酵母菌产生的肌醇六磷酸-3-磷酸水解酶强植酸降解成肌醇和磷酸^[13,14]。肌醇属生物激素 ,在微生物发酵过程中能够激活微生物体内的酶系 ,增加产物的生成量。据报道 ,肌醇用于白酒生产 ,能提高出酒率^[15]。磷是核酸和磷脂的成分 ,组成多磷化合物及许多酶的活性基 ,微生物对磷的需要量很高 ,一般

为0.005~0.01摩尔浓度。磷进入细胞后即迅速同化为有机磷化合物 ,同时形成ATP ,ADP等 ,用于调节微生物细胞生长及发酵过程的能量代谢。

综合酒精度、真正糖度、氨基氮等理化指标 ,确定植酸最佳添加浓度为0.10 %。

2.2 植酸对黄酒酵母菌增殖的影响 (见图4)

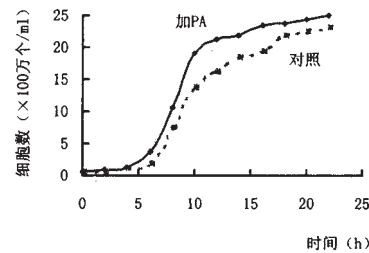


图4 黄酒酵母菌生长曲线

图4为培养基中添加0.10 %植酸酵母菌的增殖曲线。从图4中可以看出 ,添加植酸后 ,酵母的细胞增殖速度较快 ,有明显的对数生长期 ,而对照细胞增殖较平缓。这说明添加植酸后 ,酵母生命力较旺盛 ,同步性好 ,这使得酵母在接种入发酵醪后 ,酵母能缩短滞留期 ,迅速进入对数生长期进行大量繁殖 ,并很快达到主酵期 ,形成绝对的生长优势 ,增大发酵速度 ,缩短发酵时间 ,同时可以抑制杂菌污染 ,保证黄酒生产的安全性和产品的质量。

2.3 植酸对黄酒酵母菌生长及形态的影响 (见表1)

表 1 植酸对黄酒酵母菌生长及形态的影响			
项目	出芽率(%)	死亡率(%)	大小(μm)
加 PA	40.02	3.00	5~10×8.75~10
对照	29.94	4.98	3.75~8.75×5~10

表1为添加0.10 %植酸的培养基中培养48 h 的黄酒酵母的出芽率、死亡率及形态、大小的情况。

由表1可以看出 ,添加植酸后 ,酵母菌出芽率较高 ,死亡率较低 ,并且细胞形态大小均一。从而进一步说明 ,添加植酸后 ,酵母菌能迅速繁殖 ,生长旺盛 ,发酵速度快且同步性好。

2.4 植酸对黄酒酵母菌耐酒精度的影响 (见表2)

由表2可知 ,加入植酸后 ,酵母的耐酒精性能得到了很大的提高。随着外加酒精浓度的增加 ,酵母发酵产CO₂呈下降趋势。添加植酸后 ,酵母菌产CO₂缓慢减少 ,而对照样产CO₂则急剧降低。酒精浓度为18 % 时 ,加入植酸的酵母产CO₂比对照多1.73 g ;酒精浓度为20 % ,22 % 时 ,加入植酸的酵母产CO₂量几乎为对照的2倍或更多。因此 ,加入植酸后 ,酵母菌的耐酒精度由16 % 提高到20 % ,提高了4 %。从表2中还可以看出 ,加入植酸后 ,在发酵的前48 h ,酵母菌产CO₂起步早 ,且产量多 ,这也证明了植酸能加速酵母菌繁殖 ,提高细胞生长发酵的同步性。

表 2 植酸对酵母菌产 CO ₂ 的影响										
酒精度 (%)	CO ₂ 失重(g)								合计 (g)	
	24h		48h		72h		96h			
	加 PA	对照	加 PA	对照	加 PA	对照	加 PA	对照	加 PA	对照
14	1.20	0.90	2.05	1.92	1.80	1.60	1.62	1.51	6.67	5.93
16	1.20	0.88	2.03	1.91	1.71	1.58	1.60	1.40	6.54	5.87
18	1.14	0.71	1.99	1.49	1.58	1.19	1.55	1.13	6.25	4.52
20	0.93	0.52	1.95	1.05	1.50	1.05	1.41	1.02	5.89	3.64
22	0.60	0.25	1.42	0.32	1.04	0.79	1.02	0.75	4.08	2.01

2.5 植酸对成品黄酒的影响 (见表3)

表 3 植酸对黄酒成品质量的影响

项目	酒精度 (%)	总糖 (g/L)	总酸 (g/L)	氨基氮 (g/L)	真糖度 (°Bx)	挥发酸 (g/L)	挥发酯 (g/L)
加 PA	16.0	3.902	4.050	0.725	2.997	0.064	0.309
对照	14.2	4.251	4.411	0.694	3.314	0.109	0.275

由表3可知,加入植酸后,酵母的发酵能力强,对原料的利用率高,产酒精度高,挥发酯及氨基氮等风味物质也均比对照高。同时,由于植酸的加入,酵母增殖迅速,在发酵前期处于优势菌群,从而抑制了杂菌的生长,因而酿制的黄酒总酸和挥发酸均比对照低,从而提高了最终产品的质量和风味。

3 结论与讨论

植酸是近年来新发现的重要天然有机含磷化合物,是种子、谷物的60%~80%有机磷储存的重要仓库^[1]。黄酒生产中,加入一定量植酸不仅可以提高酵母菌发酵力和曲霉菌糖化力,缩短发酵周期,提高原料及设备利用率,降低成本,而且可以有效抑制杂菌生长,保证黄酒安全生产。植酸在使用时过多过少效果均不好,应控制在适量范围内。本实验研究得出,添加0.10%的植酸对黄酒酵母菌及黄酒生产均有利。

植酸的毒性极低,小鼠口服半致死量(LD₅₀)为4192 mg/kg^[16],比食盐(LD₅₀为4000 mg/kg)更安全,因而美国等发达国家已将其列为新型添加剂广泛用于食品工业。

黄酒发酵时添加一定量植酸,受菌体分泌的植酸酶的分解,产生一定量的肌醇和磷酸,有利于促进酵母的生长繁殖和提高酵母菌乙醇脱氢酶稳定性及催化能力^[13,14]。黄酒发酵特点是:敞开式、高浓度、高酒精发酵^[9]。加入植酸对提高菌体繁殖速度,抑制杂菌滋生均有明显改善。加入植酸对酵母菌的耐酒精性能也有所提高,这一点与池振明^[17]、赵宝华^[18]等的报道是一致的。目前,普遍认为植酸促酵原理是打破细胞内酶合成的“反馈平行”,改善细胞膜通透性,增加膜内外物质交换,能量转化,代谢调节等^[12],其是否还存在其他作用机理,还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Purva Vats, U.C. Banerjee. Studies on the production of phytase by

a newly isolated strain of *Aspergillus niger* var teigham obtained from rotten wood-logs[J]. Process Biochemistry, 2002, 38: 211-217.

- [2] 张素华,朱强,夏艳秋,等.蒲菜天然保鲜剂的筛选及其应用研究[J].扬州大学学报,2002,23(4):75-78.
- [3] Paivi Ekholm, Lissa Virkki, Maija Ylinen, et. The effect of phytic acid and some nature chelating agents on the solubility of mineral elements in oat bran[J]. Food Chemistry, 2003, 80: 165-170.
- [4] J.R. Vraart, Y. Schouten, C. Gooijer, et. Evaluation of phytic acid as a buffer additive for the separation of proteins in capillary electrophoresis[J]. Journal of Chromatography, 1996, 768: 307-313.
- [5] Rao RK, Eamakrishnan CV. Inositol phosphatase in developing rat duodenum, jejunum and ileum[J]. Biol Neonate, 1986, 50: 165-166.
- [6] 李记明.酵母活性剂在葡萄酒酿造中的应用研究[J].酿酒科技, 2001, (4): 88-89.
- [7] Selma H.A. Elyas, Abdullahi H. El Tinay, Nabila E. et. Effect of natural fermentation on nutritive value and in vitro protein digestibility of pearl millet[J]. Food Chemistry, 2002, 78: 75-79.
- [8] 谢广发.植酸提高米曲霉产糖化酶能力初探[J].酿酒科技, 1998, (1): 59.
- [9] 胡文浪.黄酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,1998.
- [10] 诸葛健,王正祥.工业微生物实验技术手册[M].北京:中国轻工业出版社,1994.
- [11] GB/T13662-2000 黄酒国家标准[S].
- [12] Reddy NR, Sathe SK, Salunkhe DK. Phytases in legumes and cereals[J]. Advanced Food Research, 1982, 82: 91-92.
- [13] A.L. El-Batal, H. Abdel Kareem. Phytases production and phytic acid reduction in rapeseed meal by *Aspergillus niger* during solid state fermentation[J]. Food Research International, 2001, 34: 715-720.
- [14] Larsson, M., Sandberg, A.-S. Phytate reduction in oats during malting[J]. Journal of Food Science, 1992, 67: 994-997.
- [15] 龚士选.生物激素在凤型酒生产中的试验研究[J].酿酒, 1995, (1): 57-58.
- [16] 吴谋成,袁俊华.植酸的毒理学评价和食用安全性[J].食品科学, 1997, 18(2): 46-49.
- [17] 池振明,高峻.酵母耐酒精机制的研究进展[J].微生物学通报, 1999, 26(5): 373-376.
- [18] 赵宝华,张莉.外加肌醇和钙离子对酿酒酵母乙醇发酵的影响[J].微生物学报, 1999, 39(2): 174-176.

(上接第 32 页)

表 5 发酵 15 d 后发酵液残糖和酒度

商品名称	发酵液残糖(g/L)	酒度(% ,v/v)
Zymaflore VL1(A)	24.50	11.29
Zymaflore F15(B)	7.93	13.06
Uvaferm BC(C)	34.75	10.69
Zymaflore VL3(D)	20.75	11.43
LALVIN 254(E)	7.81	12.47

能正常发酵,说明6种活性干酵母都具有较好的耐高糖特性。从发酵液残糖和酒度看,Zymaflore F15和LALVIN 254的发酵液的残糖较少,酒度较高,说明这两种活性干酵母同时具有较好的耐高酒精浓度的特性;而Uvaferm BC的发酵液残糖较高,酒精含量也较低,这说明它的耐酒精性能较差。

3 结论

3.1 不同来源的活性干酵母产品,其活细胞率和细胞总数存在较大的差异,这与产品本身质量、存放条件和存放时间等因素有关,

使用时应根据活性干酵母的实际情况确定合适的用量。

3.2 通过对6种进口葡萄酒活性干酵母产品基本发酵性能的测定,可知各产品都具有较好的耐高糖和耐SO₂特性,其最终发酵液残糖都在4 g/L以下,说明它们都适合于葡萄酒的酿造。产品Zymaflore F15和Uvaferm BC的耐CO₂性能较好,发酵速度快,在高糖情况下发酵液残糖较低,酒度较高,但产品Uvaferm BC的活细胞率和细胞总数都较低。综合比较,Zymaflore F15为优良葡萄酒活性干酵母产品。

参考文献:

- [1] Roger B. Boulton,等.葡萄酒酿造学—原理及应用[M].北京:中国轻工业出版社,2001.
- [2] 肖冬光,丁匀成.酿酒活性干酵母的生产与应用技术[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,1994.
- [3] 蔡定域.酿酒工业分析手册[M].北京:轻工业出版社,1988.
- [4] 顾国贤,等.酿造酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,1996.
- [5] 梁学军.二氧化碳浸渍法及其在红葡萄酒酿造中的应用[J].中外葡萄与葡萄酒, 2001, (4): 40-43.