

硒对啤酒酵母生理代谢活动的影响

孙海云, 于同立, 王金玉

(山东轻工业学院食品与生物工程学院, 山东 济南 250353)

摘要: 测定了不同硒离子浓度下啤酒酵母细胞的生长曲线、干重以及培养基中的 pH 值、总酸、还原糖的变化趋势。结果表明, 当亚硒酸钠的添加浓度小于 20 $\mu\text{g/mL}$ 时, 硒对酵母菌的生理代谢活动有促进作用; 当硒浓度高于 30 $\mu\text{g/mL}$ 时, 对酵母菌的生理代谢活动有明显的抑制作用, 因此硒的添加浓度应在 20 $\mu\text{g/mL}$ 左右。

关键词: 啤酒; 硒; 生理代谢; 啤酒酵母

中图分类号: TS262.5; TS261.4; TS261.1 文献标识码: A 文章编号: 1001- 9286(2007) 10- 0043- 03

Effects of Selenium on Physiological Metabolism of Beer Yeast

SUN Hai-yun, YU Tong-li and WANG Jin-yu

(Shandong Institute of Light Industry, Department of Food and Bioengineering, Jinan, Shandong 250353, China)

Abstract: The growth curve and the dry weight of beer yeast cells under different Se concentration were determined and the change rules of pH value, total acids and reducing sugar in culture medium were investigated. The results showed that Se could promote the physiological metabolism of beer yeast as the addition concentration of sodium selenite was less than 20 $\mu\text{g/mL}$, however, Se had obvious inhibitory effects as Se concentration was higher than 30 $\mu\text{g/mL}$, therefore the optimum addition concentration of Se should be about 20 $\mu\text{g/mL}$.

Key words: beer; Selenium; physiological metabolism; beer yeast

硒是生命必需微量元素之一, 近年来许多研究发现, 硒作为主要抗氧化剂, 有清除体内自由基, 减少机体脂质过氧化反应的效应, 具有抗癌、延缓衰老的作用, 具有提高机体免疫活力的作用, 此外还对一些有害金属如: Hg、Pb、As、Cd 等元素的毒性有拮抗作用。目前硒酵母以其有价值的硒蛋白且极易吸收转化及毒性小等特点被广泛利用。

而在啤酒酵母生长过程中, 生物细胞中许多生理代谢活动都与金属离子的作用密切相关, 添加硒离子对酵母细胞的生长代谢以及各种生理活动都会产生影响。因此, 本文通过各种试验来确定最合适的硒离子添加浓度, 为下一步培养高富集量的富硒酵母提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 为本实验室保藏。

1.2 实验材料

1.2.1 YEPD 液体培养基

葡萄糖 2 %, 蛋白胨 2 %, 酵母粉 1 %。

1.2.2 试剂

1 mg/mL 硒标准储备液: 精确称取 $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.8327 g 溶于少量水, 定容至 250 mL, 即为 1 mg/mL。

Fehling 试剂: 甲液: 称取 15 g 硫酸铜及 0.05 g 亚甲基蓝, 溶于蒸馏水中并稀释至 1000 mL; 乙液: 称取 50 g 酒石酸钾钠及 75 g NaOH, 溶于蒸馏水中, 再加入 4 g 亚铁氰化钾, 完全溶解后, 用蒸馏水稀释到 1000 mL, 贮存于具橡皮塞玻璃瓶中。

0.1 %葡萄糖标准溶液: 准确称取 1.000 g 经 98 ~ 100 °C 干燥至恒重的无水葡萄糖, 加蒸馏水溶解后移入 1000 mL 容量瓶中, 加入 5 mL 浓 HCl (防止微生物生长), 用蒸馏水稀释至 1000 mL。

0.1 %酚酞指示剂; 0.01 mol/L NaOH 溶液。

1.2.3 主要仪器

分光光度计: 上海第三仪器厂; pH S- 25 数显 pH 计: 上海精密科学仪器有限公司; 台式离心机: 上海安亭科学仪器厂制造; HZQ- Q 全温振荡器: 中国哈尔滨东联

收稿日期: 2007- 06- 04

作者简介: 孙海云(1981-)女, 在读硕士研究生, 研究方向: 微生物菌种的培养与选育。

电子技术开发有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种活化

于斜面培养基上挑取1环菌种接种于10 mL YEPD液体培养基中,25℃下培养1~2 d,活化3次后备用。

1.3.2 摇床培养

将已活化好的菌种以10%的接种量接于100 mL YEPD液体培养基中,在培养至6 h时加入亚硒酸钠溶液,使亚硒酸钠的浓度分别为0(空白对照)、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、30 $\mu\text{g/mL}$ 、40 $\mu\text{g/mL}$,摇床振荡培养48 h,期间每3 h取样检测,最后离心收集菌体,测其干菌体重量。

1.4 测定方法

1.4.1 细胞浓度的测定

将分光光度计波长调整到560 nm,预热30 min。吸取培养液1 mL,稀释10倍后在560 nm波长下测定吸收度A值,并绘制细胞生长曲线。

1.4.2 培养液 pH 值的测定

先测量样液温度,后校正 pH S-25 数显 pH 计,直接测定。

1.4.3 培养液中总酸的测定

取样液2 mL,稀释5倍,加入2滴酚酞指示剂,滴定至终点时消耗的NaOH的毫升数。

1.4.4 培养液中还原糖的测定

按照参考文献[5],采用Fehling试剂热滴定法进行测定。

1.4.5 酵母细胞的干重测定

将培养48 h的酵母细胞在5000 r/min下离心,用无菌水洗涤3次后再离心,80℃烘干至恒重,称量。

2 结果与分析

2.1 酵母细胞在不同硒浓度下的生长曲线 见图1)

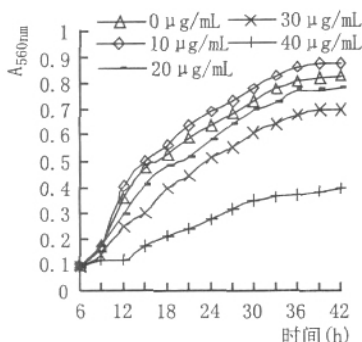


图1 不同硒浓度下酵母细胞的生长曲线

由图1可知,在6 h左右加入亚硒酸钠溶液以后,生长情况出现了明显的变化,亚硒酸钠浓度为10 $\mu\text{g/mL}$ 时,酵母菌长势高于空白时的生长趋势,说明较小浓度

的亚硒酸钠对酵母菌的生长有促进作用;当亚硒酸钠的浓度增加到20 $\mu\text{g/mL}$ 时抑制作用很小,与空白状态下的生长趋势和最后的细胞浓度相差不大;当硒浓度增加到30 $\mu\text{g/mL}$ 时,出现了明显的抑制作用,最后的细胞浓度明显小于空白时的细胞浓度;而当亚硒酸钠浓度达到40 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞长势缓慢且浓度增幅很小,远远小于其他浓度时的生长状况,可见亚硒酸钠几乎完全抑制了酵母细胞的生长,并且发酵液出现了明显的红色。

2.2 培养液 pH 值变化情况比较 见图2)

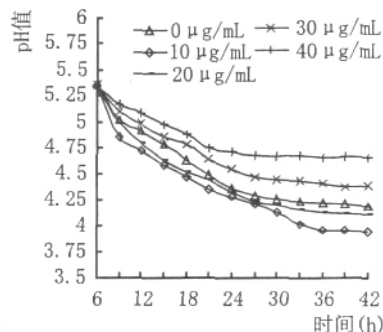


图2 不同硒浓度下培养液的 pH 值

由图2可知,培养液中的pH变化与硒离子浓度也有明显的相关性。亚硒酸钠浓度低于20 $\mu\text{g/mL}$ 时,培养液的pH值明显低于空白液的pH值,说明硒离子促进了酵母细胞的代谢,促进了酵母产酸能力,且在加有低浓度亚硒酸钠的培养液中的酵母细胞耐酸性较强,pH值能降到3.9左右;而亚硒酸钠浓度较高大于30 $\mu\text{g/mL}$ 时,pH值变化不大,说明酵母细胞的代谢减慢或是停止。

2.3 培养液中总酸的比较 见图3)

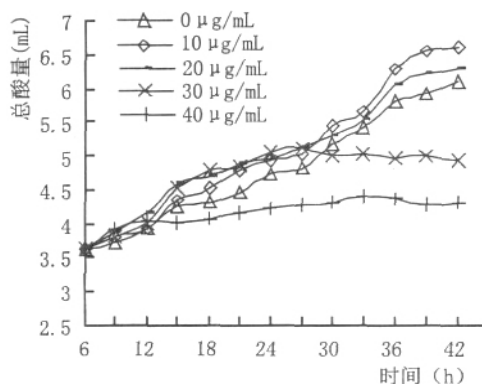


图3 不同硒浓度下培养液中的总酸产量

由图3可知,在开始的12 h,亚硒酸钠浓度越高,产酸量越大,说明亚硒酸钠可能刺激酵母代谢产酸,对酵母产酸起促进作用。而对于产酸总量来说,当亚硒酸钠浓度低于20 $\mu\text{g/mL}$ 时,高于空白培养基;硒离子浓度较高,大于30 $\mu\text{g/mL}$ 时,总酸产量明显低于空白培养基,

这可能是因为亚硒酸钠明显抑制了酵母细胞的生长, 细胞代谢停止所致。

2.4 培养基中还原糖的比较(如图 4)

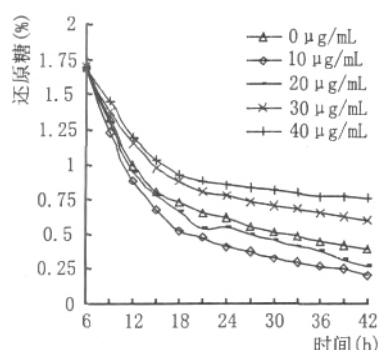


图 4 不同硒浓度下培养液中的还原糖量

由图 4 可知, 随着酵母细胞的生长, 培养液中还原糖的量逐渐减少, 细胞生长得越旺盛则消耗糖的速度越快。当硒的浓度小于 $20 \mu\text{g/mL}$ 时, 亚硒酸钠促进细胞生长, 培养液中还原糖的量明显低于空白培养液中的量; 当亚硒酸钠浓度大于 $30 \mu\text{g/mL}$ 时, 由于硒强烈抑制了细胞的生长, 导致还原糖的消耗速度减慢, 甚至趋于平稳, 不再减少。

2.5 菌体干重的比较(见表 1)

表 1 不同硒浓度下菌体干重 (g/100 mL)					
项目	硒离子浓度 ($\mu\text{g/mL}$)				
	0	10	20	30	40
菌体干重	0.4011	0.5009	0.4563	0.2400	0.2013

由表 1 可知, 在不同硒浓度下酵母细胞的产量差距很大。可更明显地看出, 低浓度硒对酵母细胞的生长有促进作用, 而高硒状态下则大大抑制其生长。

3 结论

由以上各项生理代谢指标的测定结果可知, 硒与酵母细胞的生长代谢有着明显的相关性。且硒浓度较低时能够促进酵母细胞的生长, 各种生理代谢活动旺盛; 而

在硒浓度较高时则抑制其生长, 酵母细胞的各种生理代谢活动减慢, 或者停止。因此, 在培养富硒酵母时, 添加硒离子浓度应在 $20 \mu\text{g/mL}$ 。

参考文献:

- [1] 陈灿, 王建龙. 酿酒酵母吸附重金属离子的研究进展[J]. 中国生物工程, 2006, 26(1): 69-76.
- [2] 沈慧, 王万银, 秦海宏, 等. MTT 比色法绘制不同锌浓度下细胞生长曲线[J]. 广东微量元素科学, 2004, 11(1): 16-18.
- [3] 孙付宝, 任洪艳, 窦少华, 等. 离子与啤酒酵母生理代谢相关性的初步研究[J]. 中国酿造, 2004, (8): 12-15.
- [4] 孙廷宏, 赵常新, 金凤雯. 几种无机离子对啤酒酵母生理代谢的影响及发酵过程的产酸机制[J]. 大连轻工业学报, 2002, (1): 29-32.
- [5] 丛峰松. 生物化学实验[M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2005: 87-89.
- [6] Pironcheva G.L. The effect of magnesium ions during beer fermentation [J]. Cytobios, 1998, 84: 135-139.
- [7] 王秋菊, 许丽, 崔一喆, 等. 酵母菌生长曲线的测定及不同生长时间麦芽汁糖度的变化[J]. 兽药与饲料添加剂, 2006, 11(1): 8-9.
- [8] Nanodawthana T. A method for the preparation of yeast containing organically bound by adding selenate[J]. United States Patent, 1985(19): 4,530,846.
- [9] 李爱芬, 刘振乾, 徐宁, 等. 微量元素硒载体酵母发酵的研究[J]. 暨南大学学报, 2004, (5): 625-631.
- [10] Doran J.W. Microorganisms and the biological cycling of selenium. In: Advances in Microbial Ecology [M]. Plenum Press, New York, 1982, 6: 1-31.
- [11] 蒋立科, 巴宇春, 詹万贵. 蜜蜂合成有机硒对酿蜜的影响[J]. 食品科学, 1994, 15(7): 45-48.
- [12] 李明春, 张丽, 邢来君, 等. 富硒酵母的筛选[J]. 天津轻工业学院学报, 2000, (3): 25-28.
- [13] E.J. Underwood, W. Mertz, 朱莲珍译. 人和动物微量元素营养 [M]. 青岛: 青岛出版社, 1994.
- [14] 谢丽琪, 等. 酵母同化无机硒研究[J]. 微生物学报, 1990, 80(1): 36-40.

《酿酒科技》荣获贵州省第一届优秀期刊奖

本刊讯: 2007 年 7 月 8 日, 经贵州省优秀期刊评选委员会讨论通过, 并于 7 月 13 日在《贵州日报》上公示后, 贵州省新闻出版局于 2007 年 8 月 15 日正式发出文件, 表彰第一届贵州省优秀期刊奖获奖期刊。受到表彰的期刊共 19 种, 获优秀期刊奖的期刊 10 种, 其中科技期刊 3 种, 《酿酒科技》榜上有名, 另外两种期刊是《耕作与栽培》和《种子》; 获优秀期刊提名奖的期刊 9 种, 其中科技期刊仅《机械与电子》1 种。(小雨)

