

# 压力对啤酒酵母生长及某些发酵性能的影响

董永胜<sup>1</sup>, 杨亲正<sup>1</sup>, 贾士儒<sup>2</sup>

(1. 山东轻工业学院食品与生物工程学院, 山东 济南 250353; 2. 天津科技大学生物工程实验室, 天津 300222)

**摘要:** 以气体为加压介质, 研究了不同压力下酵母细胞生长及压力对酵母发酵性能的影响。高压对酵母细胞的生长代谢有明显的影响: 压力使酵母细胞的比生长速率和生物量降低, 细胞的倍增时间延长; 电子显微镜显示, 压力使酵母菌细胞的形态发生明显的改变; 压力也导致酵母的发酵速度、耗糖率、乙醇生成量、双乙酰的生成和还原速率下降。

**关键词:** 微生物; 啤酒酵母; 压力; 生长; 发酵性能; 酵母形态

中图分类号: TS261.1; Q93- 3; TS262.5 文献标识码: B 文章编号: 1001- 9286(2007) 11- 0038- 03

## Effects of High Pressure on the Growth and the Fermentation Performance of Beer Yeast

DONG Yong-sheng<sup>1</sup>, YANG Qin-zheng<sup>1</sup> and JIA Shi-ru<sup>2</sup>

(1. College of Food and Bioengineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan, Shandong 250353; 2. Biochemistry Engineering Laboratory, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222, China)

**Abstract:** The effects of yeast cells growth and the pressure on the fermentation performance of beer yeast were studied under different pressure of compressed gas. The results indicated that high-pressure shock had obvious effects on yeast cells growth and metabolism, high pressure could slow the growth rate of yeast cells and the biomass of yeast and extend the doubling time of growth of yeast cells. SEM indicated that the morphology of yeast cells changed obviously under high pressure. During beer fermentation, the fermentation rate of yeast, the consumption rate of total sugar, the producing and reducing rates of alcohol and diacetyl were decreased as the pressure was increased.

**Key words:** microbe; beer yeast; high-pressure; growth; fermentation performance; yeast morphology

微生物在外在条件刺激下会发生应激反应, 在此类研究中, 常选用酵母菌作为研究对象, 通过“饥饿”培养法、高温、高渗透压以及异常 pH 值等条件刺激来研究酵母菌生长及体内代谢<sup>[1-3]</sup>。大多数情况下, 生物反应器的压力对微生物细胞生长及胞内特定产物含量有显著的影响<sup>[4-7]</sup>, 由于高压技术常用于食品加工及医疗器械杀菌和消毒, 而利用高压作为条件刺激, 研究压力对微生物细胞生长和胞内物质代谢影响的报道较少。

啤酒发酵过程中, 由于发酵罐内液体高度和发酵过程产生的二氧化碳, 对于大型发酵罐, 罐内压力有时可高达 0.3 MPa。压力对酵母发酵性能是否有影响的研究报道并不多。为此, 本研究选取压力作为外在条件, 研究在压力作用下酵母的生长、细胞的形态的变化及啤酒发酵过程中的理化指标, 探讨压力对酵母发酵性能的影响。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 菌种

收稿日期: 2007- 07- 23

作者简介: 董永胜(1964-), 男, 山东人, 博士, 副教授, 主要从事微生物发酵科研、教学工作。

啤酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 标记为 BB, 由天津科技大学生物工程研究室保藏。

#### 1.2 培养与分析方法

##### 1.2.1 检测方法

原麦汁浓度、总糖、发酵度、酒精度、双乙酰的测定见文献[8]。

##### 1.2.2 常压啤酒发酵实验

于三角瓶中加入灭菌的麦芽汁, 分别接入一定量经洗涤离心的酵母泥, 于 15 °C 发酵。

##### 1.2.3 高压试验装置

自制一套压力可测定和控制的加压反应系统, 反应器(不锈钢制成)的体积为 300 mL, 样品可用注射器注入。

##### 1.2.4 加压培养条件下的酵母生长曲线

扩培后的酵母菌按 10% 的接种量转接至发酵培养基中, 并将 150 mL 发酵培养基转入自行设计的高压反应釜中, 以高纯空气(O<sub>2</sub>:N<sub>2</sub> = 21:79)为加压介质先, 先

以0.05 MPa/min的速度升压, 保压一定时间后, 再以0.05 MPa/min的降压速度卸压至常压后取样在600 nm波长处测定其吸光度值。

### 1.2.5 加压发酵实验

在高压釜中加入灭菌的麦芽汁, 接入经离心洗涤的酵母泥, 以氮气为加压介质。以0.05 MPa/min的速度升压, 在不同的压力下培养, 发酵温度为15℃, 然后以0.05 MPa/min的降压速度卸压至常压后, 取样测定培养基中各物质的含量; 以常压培养为对照试验。

### 1.2.6 不同压力下酵母形态的观测

将酵母接种在麦芽汁培养基中, 在常压和加压条件下分别培养, 于400倍显微镜下观察其形态大小, XL-28 ESEM 扫描式电子显微镜拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 压力对酵母细胞生长的影响

将酵母培养液置于高压反应釜中, 于30℃, 压力分别为0.5 MPa、1.0 MPa和1.5 MPa下培养36 h, 每隔2 h取样测定溶液吸光度。

与常压(0.1 MPa)培养相比, 加压培养使酵母对数生长期延迟出现, 对数生长期的持续时间也有所缩短(见图1)。常压培养时, 酵母的对数生长期出现在第6小时, 并在第14小时进入稳定期; 而加压培养条件下, 酵母的对数生长期分别出现在8~10 h, 在14~16 h进入稳定期。在高压下, 酵母总生长量显著低于常压对照组, 而其衰亡期却提前出现, 基本上在20 h进入衰亡期; 酵母的比生长速率与倍增时间也发生了明显的变化(见表1)。与其他压力情况相比较, 在1.0 MPa下, 酵母的生长既受到明显的抑制, 又有明显的对数生长期。

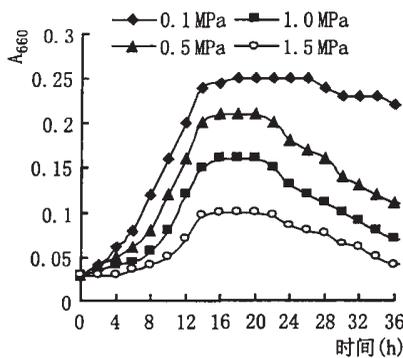


图1 压力条件下酵母生长曲线

表1 不同压力条件下的酵母比生长速率与倍增时间

项目	0.1 MPa	0.5 MPa	1.0 MPa	1.5 MPa
比生长速率( $h^{-1}$ )	0.17	0.15	0.13	0.08
倍增时间(h)	4.1	4.5	5.3	8.3

从表1和图1可知, 在压力作用下, 酵母细胞的代谢活动受到明显的抑制, 细胞内物质代谢发生了转化, 其生长繁殖所需物质的合成速度减缓, 导致酵母的生长速度减缓, 并随着压力及时间的增加, 酵母的存活率逐

渐降低, 从而导致酵母的对数生长期缩短。

酵母菌在不同压力作用下的SEM见图2。

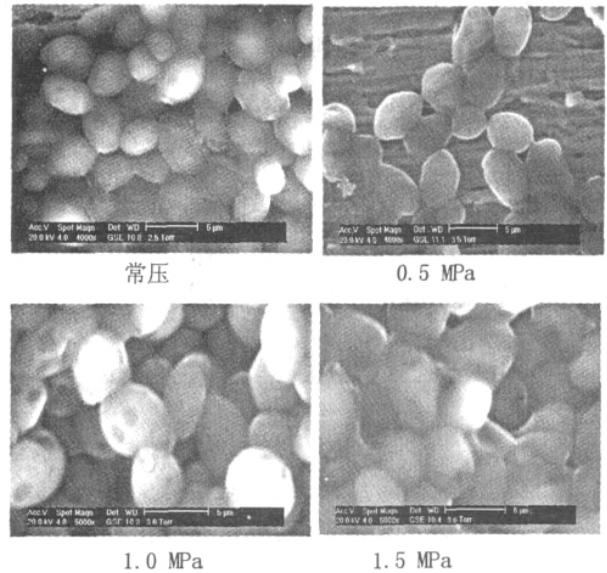


图2 酵母菌在不同压力下的电镜照片(x5000)

由图2可知, 酵母细胞在压力作用下其菌体形态较常压下发生了明显的变化: 常压下, 酵母细胞呈饱满的椭球型, 随着压力的升高, 细胞表面逐渐发生变化, 在1.5 MPa下, 细胞个体表面产生凹陷, 个别观察到破裂细胞。其原因是由于酵母细胞承受了巨大的外界刺激, 导致保护细胞自身不受外界影响的细胞膜受损, 细胞膜的通透性会发生变化, 增加了细胞与培养基接触面, 导致细胞体内代谢发生异常变化; 而部分细胞的细胞膜破裂, 致使原生质外渗而引起细胞死亡。

### 2.2 压力对酵母发酵性能的影响

分别在常压、0.5 MPa和1.0 MPa压力下进行发酵, 由于压力不同, 酵母的发酵速度有差异(见图3)。在发酵过程中, 0.5 MPa下的发酵速度较1.0 MPa快; 而常压下酵母的发酵速率一直高于酵母在压力下的发酵速率。

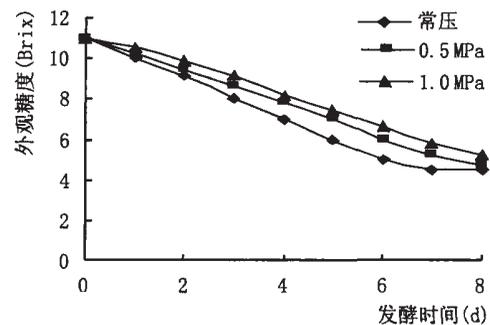


图3 压力对酵母发酵速度的影响

由于种子是在常压下培养, 转入加压发酵后, 酵母需要有一个适应过程, 因此, 加压发酵速度较慢。常压下发酵进行到第7天, 发酵液中可同化的碳源基本消耗完, 而在1.0 MPa条件下, 酵母的耗糖速率比常压条件下分别减少18.5%、36.6%、23.4%和40.0%(见图4);

而在 0.5 MPa 下的耗糖情况在前 2 天跟常压下的情况相似,而后 2 天,则类似于 1.0 MPa 的压力下的发酵结果。虽然在 0.5 MPa 条件下,前期的耗糖速率较慢,但不影响最终糖的消耗,一直到第 8 天,发酵才接近尾声(见图 3)。

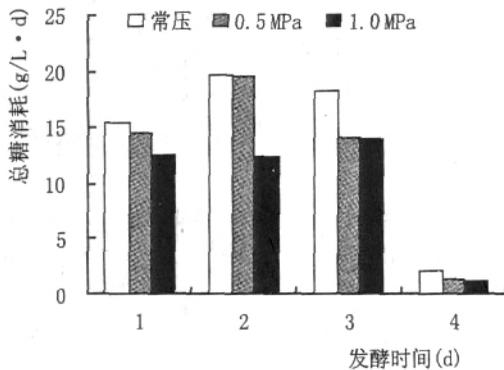


图 4 总糖的消耗速率

压力对酵母耗糖的影响,同样表现在对乙醇的生成方面。加压对于酵母菌株发酵能力有一定的抑制(见图 5)。在 1.0 MPa 压力作用下,乙醇的生成量与同期对照(常压)相比,每天减少 14.0%、10.5%、21.6%和 15.0%。而在 0.5 MPa 压力下,酵母受到抑制的程度相对 1.0 MPa 低得多,尤其是发酵前 2 天。这个结果与压力对酵母活性影响的报道相一致<sup>[9]</sup>。

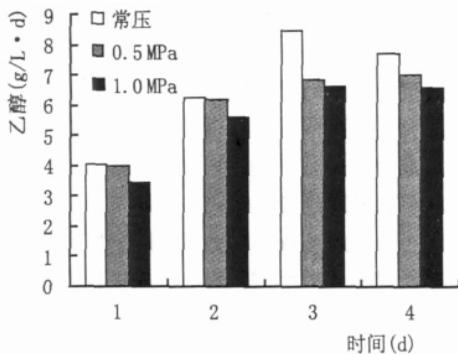


图 5 乙醇生成速率比较

双乙酰是啤酒风味物质的重要成分。定期测定加压发酵液中双乙酰含量,结果见图 6。

图 6 表明,前 3 天,双乙酰生成量比还原量高。由于压力的影响,酵母生成双乙酰比对照样分别少 19.87%、18.70%和 14.16%(0.5 MPa);而在 1.0 MPa 压力下分别少了 19.2%、28.0%和 60.3%。进入第 4 天,由于酵母生长代谢基本完成,酵母不再生成双乙酰,同时,由于还原作用,双乙酰的含量下降,有压力影响时,酵母对双乙酰的还原降低。由于酵母形成双乙酰的生物途径有两条,其一是直接由乙酰辅酶 A 和活性乙醛缩合而成双乙酰;另一条是由  $\alpha$ -乙酰乳酸的非酶分解形成双乙酰。加压可能影响到酵母的相关代谢活力,进而影响到双乙酰的生物合成与还原。

### 3 结论

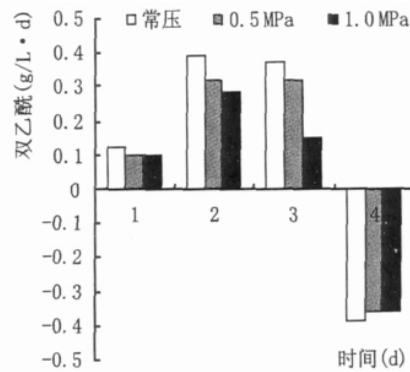


图 6 压力对双乙酰生成还原速率的影响

3.1 通过压力对酵母的生长影响的研究结果表明,高压抑制了酵母细胞内的各种代谢活动,导致酵母菌生长迟缓;同时,高压还容易造成细胞膜合成受损,使细胞个体发生变形,甚至使原生质体外渗出而引起细胞死亡,而致使酵母细胞的比生长速率和生物量降低,细胞的倍增时间延长。

3.2 研究了不同压力下,酵母对糖的发酵速度、耗糖率、乙醇生成量、双乙酰的生成和还原速率等,高压在影响酵母细胞生长的同时,作为一种外界刺激因子对酵母菌的发酵性能产生较大影响。但从另一个角度说明,随着发酵设备的大型化,压力作为影响因素将是微生物发酵工业必须要考虑的因素,因此,选育耐压酵母对于采用大型化设备进行啤酒发酵可能是一条保障措施。

### 参考文献:

- [1] P.V. Atfield. Stress tolerance: The key to effective strains of industrial baker's yeast[J]. *Nat Biotechnol.* 1997, (15): 1351- 1357.
- [2] P. Chilton. The effects of high hydrostatics pressure on bacteria[J]. *High Pressure Research in Biotechnology.* 229 (1997): 225.
- [3] P. Masson, C. Tonello, C. Balny. High-pressure biotechnology in medicine and pharmaceutical science[J]. *Biomed Biotechnol.* 2001, (2): 85- 88.
- [4] D.H. Bartlett. Pressure effects on in vivo microbial processes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 2002, 1595 (1- 2): 367- 381.
- [5] Abe, F., Kato, C., & Horikoshi, K. Pressure-regulated metabolism in microorganisms[J]. *Trends Microbiol.* 1999, (7): 447- 453.
- [6] Koffsal, M., Robergel, C., et al. Metabolic engineering[J]. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 1999, (21): 535- 557.
- [7] Mozhaev VV, Heremans K, Frank J, Masson P, Balny C. High pressure effects on protein structure and function[J]. *Proteins Struct Func Gene*, 1996, 24: 81- 91
- [8] GB/T 4928- 2001. 啤酒分析方法[S].
- [9] 乔常晟. 温和压力对酵母活性与犁头霉生物转化的影响[J]. *天津科技大学学报*, 2005, (5): 1- 3.