测定酵母菌的酒精耐性

王 敏 徐志彦

（杭州师范学院，生物系）

摘要 本文阐述了酵母菌酒精耐性的生理基础，报道了应用酒精对酵母菌生长的抑制效应测定酵母菌酒精耐性的一项研究结果，并介绍了最近几年发展的几项新的测定方法。

关键词 酿酒酵母；菌落；酒精耐性

测定酵母菌的酒精耐性是酒精类饮料生产中一项基本的测定指标，目前还没有一种被普遍采用的测定方法。以酒精对发酵率的影响来了解酵母品系的酒精耐性是普遍采用的方法。而更多的实验室则根据酒精对酵母菌生长的抑制效应进行测定。但不同实验室的测定程序也不尽相同。本文报道了我们应用酒精对酵母菌生长的抑制效应测定酒精耐性的方法和试验结果。

材料和方法

试验菌株：酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）2558，引自中科院微生物研究所；长征一号，由杭州长征化工厂提供。

测定方法：将菌株接种到 YPD 液体培养基中，30℃ 振荡培养，120r/min。24 小时后取上述培养液 0.5ml，接种在含不同酒精浓度的 YPD 液体培养基中，以不含酒精的 YPD 为对

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

照。30℃ 振荡培养，120r/min。培养 48 小时之后离心收集细胞，1500r/min 离心 20 分钟。用无菌水制备成细胞悬浮液。用血球计数板测定细胞数。把悬浮液的细胞浓度调到 1×10^2 个/ml。吸取等量的悬浮液接种到 YPD 固体培养基上，均匀涂布之后置于 30℃ 静止培养 58 小时。观察生长情况，统计菌落数。每种处理重复三次。

结 果 和 讨 论

1. 2558 菌株的起始酒精浓度为 7% (V/V)，以 3% 梯度递增，对照的酒精浓度为 0。平板培养 58 小时后，在 YPD 固体培养基上的菌落数见表 1。

2. 长征一号菌株的起始酒精浓度为 24% (V/V)，以 3% 梯度递增，对照的酒精浓度为 0。平板静止培养 58 小时后，在 YPD 固体培养基上的菌落数见表 2。

从试验结果可以看出，经过酒精处理的酵母菌菌落数都明显地低于对照。在预备试验中长征一号在酒精浓度 7—22% 范围内不表现生长的显著抑制。在正式测试时设置了更高浓度的几项处理。在酒精浓度 24—30% 范围内，其菌落数随酒精浓度增加而逐渐减少，当酒精浓度为 33% 时完全不生长，呈显著抑制。在酒精浓度 7—10% 范围内，2558 也表现相同的趋势，在浓度为 13% 的培养基上完全没有菌落，呈显著抑制。试验结果说明，一定的酒精浓度对试验酵母菌菌株的生长有明显的抑制作用。Rose 利用酒精的生长抑制效应测定了几个酵母品系的酒精耐性。他把酒精耐性定义为“酵母细胞在 30℃ 保温 72 小时之后能完全被阻止生长的酒精浓度”[1]。按照这个定义，长征一号的酒精耐性是在 30—33% 之间，2558 的酒精耐性在 10—13% 之间(若酒精浓度以 1% 梯度递增，则可以更精确地确定一个耐性值)。

不同用途的酵母耐酒精程度有明显差异。Rose 指出，一般地说用于酒厂的品系比用于饮料的品系更耐乙醇[2]。本项研究结果也反映了这种趋势。2558 是普通的酿酒酵母品系，长征一号是酒精生产中使用的一个菌株，长征一号的酒精耐性明显高于 2558。关于酵母菌酒精耐性差异的生理基础报道不多。Ingran 和 Buttke 指出，在酵母细胞与乙醇相互作用中质膜是重要的场所[3]。

关于酒精耐性的新的测定方法最近几年也有报道。Eddy 指出，在提供能源（如葡萄糖）的情况下，由于酵母细胞质膜上 ATPase 的活

表 1　2558 在 YPD 平板上的菌落数

菌落数＼酒精浓度(%) 重复	0	7	10	13	16	19	22
I	77	64	8	0	0	0	0
II	83	47	14	0	0	0	0
III	81	69	6	0	0	0	0
平　均	80.3	60	9.3	0	0	0	0

表 2　长征一号在 YPD 平板上的菌落数

菌落数＼酒精浓度(%) 重复	0	24	27	30	33	36	39
I	22	6	0	0	0	0	0
II	88	3	3	1	0	0	0
III	46	11	2	0	0	0	0
平　均	52	6.7	1.7	0.3	0	0	0

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

性，使细胞向外分泌质子形成质子流。细胞群体的质子流动率可以常规地用电极测定。质子流动率随培养基的酒精浓度的提高而减小，即酒精能导致质子流动率净值减小[4]。根据这个原理，Juroszek 提出了一种新的酒精耐性测定法[5]。他把酒精耐性定义为"使质子流动的净值降为零的酒精浓度"。Jiminež 和 Van Uden 提出的测定方法则是以细胞环境的酸性变化为指标[6]。

我们使用的酒精筛选法测定酵母菌酒精耐性，具有操作简便，结果直观，且较准确等优点。无论是测定生产用菌种的酒精耐性，还是鉴定试验用的新菌株的酒精耐性，都有实际使用价值。当然耐酒精度和产酒率并不成正比，尚有其他因素应作考虑。

参 考 文 献

1. Rose A H: In "The Biology and Activities of yeasts" 103—121, 1980.
2. Rose A H: In The yeasts, 2: 27—30, 1987.
3. Ingram L O and T M Buttke: *Advances in Microbial. Physiology.*, **25**: 253, 1984.
4. Eddy A A: *Advances in Microbial. Physiology.*, **23**: 1, 1982.
5. Juroszek J R: In The yeasts, 2: 27—30, 1987.
6. Jiminezž and Van Uden: *Biotechnology and Bioengineering*, **27**: 1596, 1985.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn