

葡萄酒活性干酵母的温度适应性研究^{*}

刘延琳¹, 蒋思欣², 张振文¹, 杨宗玲¹, 鲁燕汶¹

(1 西北农林科技大学 葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100; 2 中国科学院 微生物研究所, 北京 100080)

[摘 要] 研究了 20 余种工业化葡萄酒活性干酵母对高温与低温的适应性。结果表明, 供试菌株在 37 均生长良好, 其中 10[#] -1, 10[#] -2, 11[#] -1, 11[#] -2 和 21[#] 等 5 个菌种在供试菌中较耐高温, 在 45 仍可生长; 在 10~ 16 培养时, 随着温度的降低, 菌体生长的速度减慢, 其中 9[#], 15[#], 18[#], 26[#], 27[#] 和 30[#] 对低温(10)的适应性略强; 同一菌种个体间在生长速度和生长量上存在差异。

[关键词] 葡萄酒酵母; 温度; 适应性; 菌体生长

[中图分类号] TS261.1⁺1; TS262.6 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2004)06-0087-03

工业化葡萄酒活性干酵母在葡萄酒工业中的应用越来越普遍, 其种类也越来越多, 但人们在对众多的活性干酵母的选择上, 往往存在盲目性, 对其基本特性的了解也很欠缺, 这在很大程度上限制了这些优质酵母优良特性的充分发挥。葡萄酒酵母具有很强的温度适应性, 对葡萄酒酿造过程中发酵温区的选择十分重要, 可以避免发酵过程中酵母菌受温度胁迫而出现发酵缓慢、迟滞及产生不良代谢副产物^[1, 2]。本试验选用生产上使用较为普遍的葡萄酒活性干酵母, 纯化后研究其在高温(37~ 45)及低温(10~ 16)下的生长情况, 了解酵母对高温与低温的适应性, 以期为生产上合理选择各类酵母提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试工业化葡萄酒活性干酵母 24 种(1[#] ~ 18[#], 26[#] ~ 32[#]), 对照包括酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)保藏菌种干粉 2 种(19[#], 20[#]), 粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)保藏菌种干粉 2 种(21[#], 22[#]), 解苹果酸裂殖酵母(*S. malidevorans*)保藏干粉 2 种(23[#], 24[#])。1[#] ~ 8[#] 由越千年葡萄酿酒有限公司提供; 9[#] ~ 11[#] 由沙城长城公司提供, 12[#] ~ 18[#] 由张裕公司技术中心提供, 19[#] ~ 24[#] 来自 CGMCC, 26[#] ~ 32[#] 由龙都葡萄酒公司提供。供试酵母名称及编号见表 1。

表 1 供试酵母及编号

Table 1 Yeasts and their codes

编号 Code	名称 Name	编号 Code	名称 Name	编号 Code	名称 Name
1 [#]	B1	11 [#]	NT112	21 [#]	2 1149
2 [#]	D254	12 [#]	RC212	22 [#]	2 248
3 [#]	BM 45	13 [#]	CKS102	23 [#]	2 1628
4 [#]	K1	14 [#]	Oenaferin	24 [#]	2 1621
5 [#]	QA 23	15 [#]	71B	26 [#]	ZYMA SL
6 [#]	RA 17	16 [#]	L 2323	27 [#]	PB2023
7 [#]	GY	17 [#]	ZC1118	28 [#]	ST
8 [#]	D47	18 [#]	DV 10	29 [#]	F10
9 [#]	CR	19 [#]	2 434	30 [#]	F15
10 [#]	V in13	20 [#]	2 1545	32 [#]	GV 3070

注: 分别从 1[#], 7[#], 10[#] 和 11[#] 酵母中分离出大、小 2 种菌落, 记为 □[#] - 1 和 □[#] - 2。

Note: Two kinds of clone (big and small) were separated from 1[#], 7[#], 10[#] and 11[#], marked as □[#] - 1, □[#] - 2

1.2 方 法

1.2.1 培养基 采用 YEPD 培养基^[3]。

1.2.2 供试工业化葡萄酒活性干酵母的纯化及供试材料的活化 活化与纯化程序^[4]: 菌种(活性干

* [收稿日期] 2003-06-02
[作者简介] 刘延琳(1966-), 女, 陕西富县人, 副教授, 主要从事葡萄与葡萄酒研究。

粉)→20 g/L 蔗糖水 3 mL→活化(37℃, 30 min)→接种→2 mL YEPD 液体培养基→培养(28℃, 24 h)→接入 0.5 mL 无菌水→划 YEPD 平板→培养(28℃, 24 h)→挑单菌落到 YEPD 液体培养基, 每支菌种挑 5 个单菌落→培养(28℃, 24 h)→接入 0.5 mL 无菌水饥饿 2 h 以上→特性研究。酵母菌的生长情况肉眼观察: 菌液与对照相比出现混浊, 记为“+”, 根据混浊程度加重的情况, 依次记为“++”及“+++”。

1.2.3 供试菌种的耐高温试验 配制 YEPD 液体培养基, 接入经饥饿的单菌落菌悬液, 分别在 37, 39, 41, 43 和 45℃ 培养, 每 12 h 观察记录酵母菌的生长情况, 观察 7 d。

1.2.4 供试菌种的耐低温试验 配制 YEPD 液体培养基, 接入经饥饿的单菌落菌悬液, 分别在 16, 13

和 10℃ 培养, 每 24 h 观察记录酵母菌的生长情况, 观察 7 d。以 25℃ 的生长情况为对照。

2 结果与分析

2.1 高温对酵母菌生长的影响

不同温度对酵母菌生长的影响见表 2。由表 2 可见, 所有供试菌株在 37℃ 均生长良好; 在 39℃, 除 24[#] 有一个单株不生长外, 其余均生长良好。2[#], 4[#], 5[#], 9[#], 12[#]~20[#] 和 22[#]~24[#] 在 41℃ 不再生长。将在 41℃ 可生长的单株, 在 43 和 45℃ 继续培养, 10[#]-1, 10[#]-2, 11[#]-1, 11[#]-2 和 21[#] 能继续生长, 这 5 个菌种在供试菌中较耐高温; 3[#] 和 6[#] 在 43℃ 可生长, 而在 45℃ 不再生长; 8[#] 和 9[#] 在 43℃ 可生长, 而在 45℃, 8[#] 有 2 个单株可生长, 9[#] 有 1 个单株可生长。

表 2 酵母菌在不同高温下的生长情况

Table 2 Growth of yeasts at different high temperature

编号 Code	37		39		41				43				45			
	36~	54 h	36 h	54 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
2 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 [#]	+	+	+	+	+	-	- /+	- /+	- /+	-	-	-	- /+	-	-	-
4 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	- /+	-	-	-
5 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 [#]	+	+	+	+	+	-	- /+	- /+	- /+	-	+	+	+	-	-	-
8 [#]	+	+	+	+	+	-	- /+	- /+	+	+	-	+	+	- /+	- /+	- /+
9 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	- /+	+	+	+	- /+	- /+	- /+
10 [#] -1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 [#] -2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11 [#] -1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11 [#] -2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 [#]	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注: - . 不生长; + . 生长量少; ++ . 生长量中; +++ . 生长量多; +/- . 表示多于半数的单株生长; -/+ . 表示多于半数的单株不生长。表 3 同。

Note: - . no grow th; + . little; ++ . medium; +++ . more; +/- . more than half of the strains showed grow th; -/+ . more than half of the strains showed no grow th This is the same in Table 3

2.2 低温对酵母菌生长的影响

以酵母菌在 25℃ 的生长情况为对照。由表 3 知, 供试菌在 25℃ 生长的第 2 天, 生长量即达到最大。随着温度降低, 生长速度减慢, 供试酵母在 10

培养时, 部分菌株在培养 5 d 后, 才观察到有轻微生长; 培养至第 7 天, 绝大多数供试菌都可以生长, 但生长量较小, 其中, 9[#], 15[#], 18[#], 26[#], 27[#] 和 30[#] 对低温的适应性略强, 7[#]-2 和 17[#] 对低温的耐受力较

弱。在 13℃ 培养时, 所有供试菌株在培养 2 d 时, 均未生长, 培养 3 d 后可观察到部分菌株有轻微生长, 培养至第 7 天时, 绝大多数供试菌株的生长量达到最大值。在 16℃ 培养时, 所有供试菌株在培养 1 d 时, 均未生长, 培养 2 d 后可观察到部分菌株有轻微生长, 培养至第 6 天时, 绝大多数供试菌株的生长量达到最大值。表 3 还表明, 同一菌种个体间的生长速度和生长量存在差异。

表 3 酵母菌在不同低温下的生长情况

Table 3 Growth of yeasts at different low temperature																						
编号 Code	16							13							10				25 (CK)			
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	1~2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	1~3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	1 d	2~3 d		
1 [#] -1	-	-	+	++	++	++	++	-	-	+/-	+	+	++	-	-	-	-/+	+	+	+++		
1 [#] -2	-	-	+	++	+	++	++	-	-	-	+	+	++	-	-	-	+	+	+	+++		
2 [#]	-	+/-	+	+	++	++	++	-	+	+	+	++	++	-	-	+	+	+	+	+++		
3 [#]	-	-	+	+	+	++	++	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+++		
4 [#]	-	-	+	++	++	++	++	-	+	+	+	++	++	-	-	-/+	+	+	+	+++		
5 [#]	-	-	-	+	+	++	++	-	-/+	-/+	+	++	++	-	-	-	-	+	+	+++		
6 [#]	-	-	-	-/+	+/-	++	++	-	+/-	+/-	+	+	++	-	-/+	-/+	+/-	+	+	+++		
7 [#] -1	-	-/+	+/-	+	++	++	++	-	+/-	+/-	+	++	++	-	-	+/-	+	+	+	+++		
7 [#] -2	-	-/+	-/+	-/+	+/-	+	++	-	-	-	-/+	-/+	+	-	-	-	-	-/+	-/+	+++		
8 [#]	-	+/-	+	+	++	++	++	-	-	+	+	++	++	-	-	+	+	+	+	+++		
9 [#]	-	+	+	++	++	++	++	-	+	+	++	++	++	-	-	+	+	++	+	+++		
10 [#] -1	-	+	+	++	++	++	++	-	+	+	++	++	++	-	-	+/-	+	+	+	+++		
11 [#] -1	-	+	+	+	++	++	++	-	-	-	+	+	++	-	-	-	+	+	+	+++		
12 [#]	-	+	+	+	++	++	++	-	+	+	+	++	++	-	-	+	+	+	+	+++		
13 [#]	-	+	+	++	++	++	++	-	+	+	+	++	++	-	-	-/+	+/-	+	+	+++		
14 [#]	-	+/-	+	++	++	++	++	-	+	+	++	++	++	-	-	+	+	+	+	+++		
15 [#]	-	-/+	+	++	++	++	++	-	+	+	++	++	++	-	-	+/-	+	+++	+	+++		
16 [#]	-	-	+	+	++	++	++	-	-/+	+	+	++	++	-	-	+	+	+	+	+++		
17 [#]	-	-	-	-/+	+/-	+	++	-	-	-	+	+	++	-	-	-	-	-/+	-/+	+++		
18 [#]	-	-/+	+	+	++	++	++	-	-	+	+	++	++	-	-	-/+	+	++	+	+++		
26 [#]	-	+	+	++	++	++	++	-	+	+	++	++	++	-	-	+	+	++	+	+++		
27 [#]	-	+	+	++	++	++	++	-	+	+	++	++	++	-	-/+	+/-	+	++	+	+++		
28 [#]	-	+/-	+	+	++	++	++	-	+/-	+	+	++	++	-	+/-	+	+	+	+	+++		
29 [#]	-	+	+	+	++	++	++	-	-/+	+	+	+	++	-	-	+	+	+	+	+++		
30 [#]	-	+	+	++	++	++	++	-	+/-	+	+	++	++	-	-	+	+	++	+	+++		
31 [#]	-	+/-	+	+	++	++	++	-	+/-	+	++	++	++	-	-	+	+	+	+	+++		

3 结 论

- 1) 所有供试菌株在 37℃ 均生长良好, 10[#] -1, 10[#] -2, 11[#] -1, 11[#] -2 和 21[#] 等 5 个菌种在供试菌中较耐高温, 在 45℃ 仍可生长。
- 2) 在 16℃ 培养至第 6 天, 在 13℃ 培养至第 7 天时, 绝大多数供试菌的生长量达到最大值。部分菌

株在 10℃ 培养 5 d 后, 才观察到有轻微生长, 培养至第 7 天, 绝大多数供试菌都可以生长, 但生长量较小。试验表明, 9[#], 15[#], 18[#], 26[#], 27[#] 和 30[#] 对低温的适应性略强; 7[#] -2 和 17[#] 对低温的耐受力较弱。随着温度的降低, 供试菌株生长速度减慢, 且同一菌种个体间的生长速度和生长量存在差异。

[参考文献]

[1] 李 华 现代葡萄酒工艺学[M] 西安: 陕西人民出版社, 2000

[2] Pascal R G, Denis D, Bernard D, et al Handbook of enology[M] London: John W iley & Sons L td, 2000

[3] [美]Frederick M , A usubel 精编分子生物学实验指南[M] 颜子颖, 王海林, 译 北京: 科学出版社, 1999 39- 42, 698- 699

[4] 蔡金科 微生物遗传学实验技术[M] 北京: 科学出版社, 1992

(下转第 94 页)

Study on the change and the control of vitamin C during strawberry juice processing

GAO Yuan-jun^{1,2}, XIONG Wei-dong², XU Ke-yong¹, FAN Hao-li³, HOU Hong-qin³

(1 College of Food Science and Engineering, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Food and Bioengineering Department, Zhengzhou College of Light Industry, Zhengzhou, Henan 450002, China;

3 Food Science Department, Henan Vocation-Technical Teachers College, Xinxiang, Henan 453003, China)

Abstract: Changes of vitamin C and methods to control the change during strawberry juice processing were studied in this paper. The results showed that: cleaning method had evident effect on content of vitamin C in strawberry and the fast cleaning made for vitamin C retention. Various blanching had significant effect on content of vitamin C in strawberry. Both hot water blanching and steam blanching reduced content of vitamin C in strawberry. The vitamin C retention by microwave blanching is higher than that by hot water blanching and steam blanching, and increased 1.77% - 5.31% than raw strawberry. Hot squeezing was beneficial for keeping vitamin C content in strawberry juice. The process of cooling and clarifying supplemented with 0.03% EDTA + 0.03% Phytic acid was beneficial for keeping vitamin C content in strawberry juice. Pasteurization by 90 °C and 15 minutes has better effect of sterilization and keeping vitamin C 98.56%; After pasteurization, fast cooling was beneficial to vitamin C retention.

Key words: strawberry juice; processing technology; vitamin C retention

(上接第 89 页)

Characteristics of temperature tolerance of dry yeast for vinification

LIU Yan-lin¹, JIANG Si-xin², ZHANG Zhen-wen¹, YANG Zong-ling¹, LU Yan-wen¹

(1 College of Enology, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi, 712100, China;

2 Institute of Microbiology, the Chinese Academy of Science, Beijing 100080, China)

Abstract: More than 20 kinds of dry wine yeasts were used for the characteristic study of high and low temperature tolerance in this paper. The results indicated that all the yeasts could grow at 37 °C. Less yeasts could grow with the temperature increasing. Five yeast strains (10[#]-1, 10[#]-2, 11[#]-1, 11[#]-2, 21[#]) have the ability growing in high temperature (45 °C). And when the temperature was much low (10-16 °C), the growth rates were slowed down with the temperature decreasing. Six strains (9[#], 15[#], 18[#], 26[#], 27[#] and 30[#]) grew better in low temperature. Differences could be observed in different growth conditions, as well as in growth rate and in growth capacity.

Key words: wine yeast; temperature; tolerance; growth of yeast