

# 海藻糖对面包酵母高糖耐性的影响

徐 曼,肖冬光,郭学武,姜天笑,刘宝开

(天津科技大学 天津市工业微生物重点实验室,天津,300457)

**摘 要** 通过高温刺激使面包酵母积累较高的胞内海藻糖,考察胞内海藻糖含量对面包酵母高糖发酵力和高渗透存活率的影响。研究表明,发酵结束前2 h培养温度提高至40℃后,菌株BY-6胞内海藻糖含量由4.21%提高到9.76%,高糖发酵力提高了17.2%,高渗透存活率也有一定提高。另外对3株面包酵母的海藻糖积累能力和面团发酵力的比较表明,海藻糖积累能力强的酵母菌株高糖耐性较好。

**关键词** 海藻糖,高糖耐性,面包酵母,高渗透压

相对于普通面包而言,甜面包的制作,除添加面粉、酵母、盐和水外,还需加入大量的蔗糖(用量高达16%~30%)<sup>[1]</sup>,此时在高糖面团中,普通面包酵母的发酵速度就不可避免地受到抑制。传统面包制作一般都采用加大酵母用量的方法,这无疑会带来一些负面影响<sup>[2]</sup>,因此为了降低甜面包的制作成本、保持面包的风味,必须提高面包酵母对高渗透压的耐性。

海藻糖是由2个葡萄糖分子通过半缩醛羟基以 $\alpha$ -1,1-键连接的一种非还原性双糖,广泛存在于许多低等动植物、藻类、真菌与细菌中<sup>[3]</sup>。在各种恶劣环境下,海藻糖表现出对物种的生物膜、蛋白质和核酸等生物大分子良好的保护作用<sup>[4]</sup>,因此被称为“生命之糖”。史戈峰等<sup>[5]</sup>研究发现,酿酒酵母在高糖浓度下细胞合成较多的海藻糖,以保护自己,维持较高的存活率。Patrick等<sup>[6]</sup>研究了海藻糖对酵母细胞高渗透耐性的作用,指出以葡萄糖为碳源处于指数期的酵母细胞内无海藻糖检出,海藻糖的含量仅与稳定期的培养条件或非可发酵碳源上生长的酵母的高渗透耐性具有直接关系。这说明目前对高糖条件下海藻糖的保护作用还存在争议。本实验研究了面包酵母胞内海藻糖积累的最适温度刺激条件,分析了胞内海藻糖含量对面包酵母高糖发酵力和细胞存活率的影响,同时探讨了面包酵母对葡萄糖和山梨醇两种渗透压调节剂的反应机制是否存在区别。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种和培养基

面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)BY-6、BY-

12和BY-15,天津市工业微生物重点实验室保存。

YEPD培养基:酵母浸粉1%、蛋白胨2%和葡萄糖2%。

高糖培养基:葡萄糖含量分别为30%、40%、50%,NaCl 1%,pH6.0。

高山梨醇培养基:山梨醇含量分别为30.4%、40.4%、50.6%,NaCl 1%,pH6.0。

### 1.2 培养方法

种子培养:接1环斜面种子于装有30 mL种子培养基的150 mL三角瓶中,30℃静置培养24 h。

摇瓶培养:500 mL的三角瓶装液量为100 mL,接种量为10%,30℃、150 r/min振荡培养。

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 海藻糖测定

硫酸-蒽酮法<sup>[5]</sup>。

#### 1.3.2 细胞干重测定

干重法<sup>[5]</sup>。

#### 1.3.3 高渗处理与细胞存活率的测定

溶液的渗透压大小与溶液的物质的量浓度和绝对温度成正比,而与溶质的性质(如轻重、分子或离子等)无关<sup>[7]</sup>。通过溶液的物质的量浓度调节高渗培养基(山梨醇和葡萄糖)至等渗,取培养24 h的酵母培养液于高渗培养基中冲击2 h,用美兰染色法测定细胞存活率<sup>[8]</sup>。

#### 1.3.4 普通面团发酵力的测定

称取标准粉50 g、蔗糖2 g、NaCl 0.5 g和鲜酵母泥2 g(干物质含量25%),将蔗糖和NaCl溶解于水中,然后将该溶液倒入盛有鲜酵母泥的烧杯中,混匀后倒入标准粉中,调制成面团,揉面时间控制在5 min,面团终温度为(30±2)℃。将调制好的面团装入100 mL量筒,用玻璃棒压实,读出初始刻度,置于

第一作者:硕士研究生(肖冬光教授为通讯作者)。

收稿日期:2008-06-03,改回日期:2008-09-05

30℃培养箱静置发酵。发酵力以2 h内面团体积的增加量表示。

1.3.5 高糖面团发酵力的测定

蔗糖添加量为10 g,其他同1.3.4。

2 结果和讨论

2.1 海藻糖积累条件的确定

研究表明,温度休克培养能提高6-磷酸海藻糖合成酶和6-磷酸海藻糖磷酸脂酶的活性<sup>[9,10]</sup>,从而有利于酵母细胞内海藻糖的积累。实验以面包酵母BY-6为对象,研究了不同刺激温度对胞内海藻糖积累的影响,结果如图1所示。

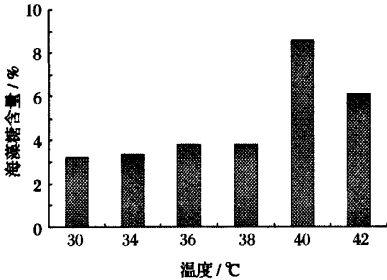


图1 海藻糖积累条件的确定

由图1可见,温度刺激对海藻糖积累的影响较显著。随着刺激温度自34℃逐步升高到40℃,酵母菌体内海藻糖积累量呈现上升趋势,在40℃时达到最大值。但在42℃时海藻糖积累量有所降低。这可能是因为高温条件下,随着时间的延长,菌体的存活率下降<sup>[11]</sup>,从而影响了海藻糖的积累。因此选定发酵后期刺激温度40℃为酵母菌胞内海藻糖积累的发

酵条件。

2.2 海藻糖积累对面包酵母高糖耐性的影响

2.2.1 海藻糖积累对面包酵母高糖发酵力的影响

测定了BY-6菌株在正常培养条件(30℃)和高温刺激条件(40℃)下的海藻糖含量及高糖面团的发酵力,结果见表1。

表1 海藻糖积累对面包酵母高糖发酵力的影响

发酵条件	海藻糖含量/%	发酵力/mL	相对发酵力/%
正常培养(30℃)	4.21	32.0	100.0
高温刺激(40℃)	9.76	37.5	117.2

从表1可见,在高温刺激下胞内海藻糖含量由4.21%提高到9.76%,而高糖发酵力提高了17.2%,这表明胞内海藻糖的积累一定程度上可以提高面包酵母的高发酵力,其原因是胞内海藻糖能调节高糖环境下外界的渗透压,并有助于维持膜的完整性和蛋白质的稳定性,从而提高了面包酵母耐高糖的能力。

2.2.2 海藻糖积累对面包酵母高渗存活率的影响

用葡萄糖和山梨醇作为渗透压调节剂,研究海藻糖积累量对面包酵母高渗存活率的影响,并探讨酵母对葡萄糖和山梨醇2种渗透压调节剂的反应机制是否存在区别(见表2)。结果表明菌株BY-6在高渗环境下,较高的胞内海藻糖含量可明显提高其存活率。从两种渗透压调节剂的处理结果看,在等渗条件下以葡萄糖为渗透压调节剂时,其细胞存活率相对较高,但采用温度刺激培养使酵母胞内积累较高的海藻糖后,以山梨醇为渗透压调节剂时其细胞存活率的增长幅度较大。这表明酵母对葡萄糖和山梨醇两种渗透压调节剂的反应机制具有一定差异,以山梨醇为渗透压调节剂时海藻糖对酵母细胞高渗耐性的保护作用更加显著。

表2 海藻糖积累对面包酵母高渗存活率的影响

		渗透压调节剂					
		30.0%	30.4%	40.0%	40.4%	50.0%	50.6%
		葡萄糖	山梨醇	葡萄糖	山梨醇	葡萄糖	山梨醇
正常培养 (30℃)	海藻糖/%	4.21					
	存活率/%	73.8	57.1	57.6	50	45	35
高温刺激 (40℃)	海藻糖/%	9.76					
	存活率/%	82.5	75	62.5	60	48.2	40.5
细胞存活率增加幅度/%		8.7	17.9	4.9	10	3.2	5.5

2.3 不同菌株海藻糖积累能力及高糖耐性比较

2.3.1 不同菌株海藻糖积累能力及高糖发酵力的比较

为了深入分析海藻糖含量和酵母高糖耐性的关

系,对3株不同耐性的面包酵母BY-6、BY-12和BY-15海藻糖积累能力进行了比较,同时分别测定了3株菌的高糖面团和普通面团发酵力,结果见表3和表4。

表 3 正常培养条件下不同菌株海藻糖含量与发酵力比较

菌株	海藻糖含量	发酵力/mL		
	/%	高糖面团	普通面团	相对发酵力/%
BY-6	4.21	33.0	46.0	71.7
BY-12	3.66	31.0	50.0	62.0
BY-15	2.83	28.5	51.5	55.3

表 4 高温刺激条件下不同菌株海藻糖含量与发酵力比较

菌株	海藻糖含量	发酵力/mL		
	/%	高糖面团	普通面团	相对发酵力/%
BY-6	9.76	37.5	43.0	87.2
BY-12	7.59	38.0	47.0	80.9
BY-15	4.92	35.5	47.0	75.6

对照表 3 和表 4,在高温刺激下,各菌株的胞内海藻糖含量和高糖发酵力都有所提高,其中 BY-6 菌株胞内海藻糖积累能力最强,含量从 4.21% 提高到

9.76%,其高糖面团发酵力也最高,达普通面团发酵力的 87.2%。说明不同酵母菌株之间的高糖耐性存在明显的差异,而海藻糖积累能力是产生高糖耐性差异的主要原因。

2.3.2 不同菌株高渗存活率的比较

用葡萄糖和山梨醇作为渗透压调节剂,对不同菌株的高渗存活率进行了比较(见表 5)。结果表明,酵母细胞经高温刺激后,胞内海藻糖的含量越高,高渗存活率越高。从 2 种渗透压调节剂的处理结果看,在等渗条件下以山梨醇为渗透压调节剂时,BY-12 和 BY-15 的细胞存活率相对较高;但采用温度刺激培养使酵母胞内积累较高的海藻糖后,BY-6 和 BY-15 在以山梨醇为渗透压调节剂时,细胞存活率增长幅度较大。这说明不同酵母菌株的高渗耐性存在一定差异,而胞内海藻糖的积累均可提高细胞的高渗耐性。

表 5 不同菌株高渗存活率的比较

		存活率/%					
		正常培养(30℃)			高温刺激(40℃)		
		BY-6	BY-12	BY-15	BY-6	BY-12	BY-15
渗透压调节剂	30.0%葡萄糖	73.8	61.5	50.0	82.5	65.8	61.1
	30.4%山梨醇	57.1	69.2	55.0	75.0	73.7	72.2
	40.0%葡萄糖	57.6	52.6	37.5	62.5	59.0	47.2
	40.4%山梨醇	50.0	61.5	47.5	60	63.2	69.4
	50.0%葡萄糖	45.0	31.6	27.5	48.2	46.2	38.8
	50.6%山梨醇	35.0	47.4	45	40.5	53.8	67.5

3 结 论

(1) 试验结果表明,胞内海藻糖的积累在一定程度上可以提高面包酵母的高渗耐性和高糖发酵力,因此生产耐高糖面包酵母应积累较高的海藻糖。

(2) 不同酵母菌株之间的高糖耐性存在明显的差异,而海藻糖积累能力是产生高糖耐性差异的主要原因,由此可见通过选择海藻糖积累能力强的酵母即有可能获得耐高糖面包酵母生产菌株。

(3) 从 2 种渗透压调节剂的处理结果看,在等渗条件下不同酵母菌株对葡萄糖和山梨醇两种渗透压调节剂的耐性反应存在一定差异,但其机理尚不清楚有待研究。

参 考 文 献

1 Reed G, Nagodawithana, T W Yeast Technology [M]. 2nd edition. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991

2 束强民,陈孝民,颜方贵.面包酵母菌种改良的研究进展[J].食品与发酵工业,1996,(1):65~69

3 李澄冰,池振明.酵母中海藻糖与抗逆境的关系[J].食品研究与开发,2000,21(4):6~8

4 张玉华,凌沛学,籍保平.海藻糖的研究现状及其应用前景[J].食品与药品,2005,7(3):8~13

5 史戈峰,莫湘筠.酒精发酵过程中酿酒酵母海藻糖代谢的研究[J].食品与发酵工业,1999,25(5):15~18

6 Patrick van Dijck, Didier Colavizza. Differential importance of trehalose in stress resistance in fermenting and nonfermenting *Saccharomyces cerevisiae* cells [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(1):109~115

7 杨景民,郝丽瑾.渗透压及其临床应用[J].菏泽医学学报,1995,7(1):3~6

8 杜连祥.工业微生物学实验技术[M].天津:天津科学技术出版社,1992.28~29

9 Usui. Process for Producing Riboflavin by Fermentation [P], U S. 5334510

- 10 李庆余. 维生素 B2 产生菌原生质体诱变选育[J]. 微生物学报, 1990, 30(4): 312~313
- 11 Paul V Attfield. Trehalose accumulates in *Saccharomyces*

*cerevisiae* during exposure to agents that induce heat shock response [J]. FEBS LETTERS, 1987, 225 (2), 259~263

## Effect of Intercellular Trehalose on the High Sugar Tolerance of Baker's Yeast

Xu Man, Xiao Dongguang, Guo Xuewu, Jiang Tianxiao, Liu Baokai

(The Key Laboratory of Industrial Microbiology Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**ABSTRACT** The effect of intercellular trehalose on the leavening ability and cell viability of baker's yeast to ferment high sugar concentrations was studied through heat-shock culture which was used to accumulate trehalose. The present work indicated that when the cultural temperature was raised to 40 °C 2 h before the ending of fermentation, the content of intracellular trehalose was increased from 4.21% to 9.76%, and the high sugar fermentative activity was increased by 17.2%. The high osmotic resistance of yeast was also improved. Moreover, the accumulation ability of trehalose and the leavening ability of three different yeast strains were compared, which showed that for baker's yeast, the more intracellular trehalose was accumulated, the better the high sugar tolerance.

**Key words** trehalose, high sugar tolerance, baker's yeast, high osmotic pressure

### 出口茶叶质量安全国标正式实施

我国首个针对出口茶叶质量安全控制体系制定的国家标准《出口茶叶质量安全控制规范》正式实施,规范将为我国茶叶出口带来新的技术支撑,让中国茶香飘世界。

该规范是针对对出口茶叶种植、采摘、加工、检验、监测、追溯、产品召回等涉及到产品质量安全控制的方面提出质量要求。而在此之前,我国的茶叶出口主要按照 2006 年 10 月 1 日实行的《茶叶卫生标准》,海关进出口检验的有关要求以及根据进口国的有关标准进行检测。

该标准共分 10 个部分,对茶叶从生产到出口的各个环节均作了详细规定;还根据当前的形势特点,新增了茶叶源头管理,即茶园管理和初加工部分,以及产品出口的预警和召回制度等。此前,我国制定的涉及茶叶的国家标准、行业标准和地方标准接近 500 项,但缺乏专门的国家标准或行业标准,导致我国茶产业防范国外绿色壁垒、参与国际竞争的能力不足,茶叶出口屡屡受阻。

有专家认为,该规范能有效促进企业规范种植加工茶叶,加强产品追溯,提高茶叶质量,开拓国外市场。同时,将有力提高我国茶园管理水平,整合落后、弱小的茶园,促进优质茶叶种植和出口加工。

据海关统计,2008 年上半年我国茶叶出口 15.13 万 t,出口金额近 3.44 亿美元,同比分别增长 5.49% 和 19.88%,平均单价为每公斤 2.27 美元,比去年同期增长 13.65%。多年来,我国茶产业蓬勃发展,然而多数茶叶出口至非洲、中亚和独联体等经济欠发达地区,基本上以中低档茶为主,产品缺少科技含量、附加值低等因素限制了我国茶叶出口规模。

有茶业专家认为,中国茶要真正专向世界,首先必须解决标准化问题,一是让消费者能够简单地直接判定茶叶的质量、价格;二是从制作工艺入手,解决品质不稳定问题,用标准的制作工艺生产出质量稳定的产品。

我国茶叶年出口量占总产量的 30%,达 20 万 t,创汇近 4 亿美元。近年来,随着我国对外贸易的不断发展,世界各国对我国出口茶叶提出了更加严格的卫生要求。欧盟从 2000 年 7 月 1 日起,对进口茶叶提出数百种农药残留限量标准,日本《肯定列表制度》自 2006 年 5 月 1 日起,规定茶叶应做近 300 种药残限量检测,对我国茶叶出口都构成很大影响。

中国茶叶流通协会表示,新规范引用通用的有关标准与技术规范,对规范茶叶出口企业加强质量安全监控、提高企业的防范意识、降低企业的风险起到了一定的促进作用。