

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 20120051302050

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

优良啤酒酵母菌株的选育及运用 RAPD 技术
鉴定酵母突变株的初探

Screening of the Fine Brewer's Yeast Strains and
Preliminary Study on the Identification of Yeast
Mutants by RAPD

曾 婷

指导教师姓名: 刘月英 教授

专业名称: 发育生物学

论文提交日期: 2008 年 4 月

论文答辩时间: 2008 年 5 月

学位授予日期: 2008 年 月

答辩委员会主席: 宋思扬

评 阅 人: _____

2008 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1. 保密 (), 在年解密后适用本授权书。
2. 不保密 ()

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名: 日期: 年 月 日

导师签名: 日期: 年 月 日

目 录

摘要.....	1
ABSTRACT.....	3
第一章 前言.....	5
一 啤酒的历史.....	5
二 啤酒的营养功用.....	5
三 我国啤酒工业的现状和展望.....	6
四 影响啤酒风味的主要物质.....	7
五 优良啤酒酿造酵母菌种的选育.....	18
六 本文的研究意义、研究目的和研究内容.....	25
第二章 材料与方法.....	27
一 材料.....	27
二 方法.....	31
第三章 结果与分析.....	38
一 实验菌株的一些特性.....	38
二 抗甲磺隆(SM)自发突变优良菌株的选育及 ILV2 基因分析.....	39
三 优良啤酒酵母菌株的诱变选育及其发酵特性的研究.....	57
四 啤酒酵母菌株的转化酶和双乙酰还原酶的活性分析.....	73
五 运用 RAPD 技术鉴定啤酒酵母突变株的探讨.....	76
第四章 讨论与结论.....	82
一 优良啤酒酿造酵母菌株的选育.....	82
二 SM 抗性株及其亲株的 ILV2 基因分析.....	89
三 啤酒酵母菌的转化酶和双乙酰还原酶的活性分析.....	89
四 运用 RAPD 技术鉴定啤酒酵母突变株的探讨.....	90
五 小结.....	92
参考文献.....	93
致谢.....	100

CONTENTS

ABSTRACT (In Chinese)	1
ABSTRACT (In English)	3
CHAPTER 1 INTRODUCTION	5
1. History of beer.....	5
2. Nutrition of beer.....	5
3. Current situation and prospect of beer brewing industry in China.....	6
4. Main components influencing beer's flavor	7
5. Screening of fine brewer's yeast strains.....	18
6. Objective, significance and contents of this research	25
CHAPTER 2 MATERIALS and METHODS	27
1. Materials	27
2. Methods.....	31
CHAPTER 3 RESULTS and ANALYSIS	38
1. Some characteristics of experiment strains	38
2. The screen of SM-resistant strains and the analysis of the ILV2 gene.....	39
3. The screen of fine brewer's yeast strains with mutagenesis and the research of their fermentation characteristics.....	57
4. The analysis of invertases and diacetyl reductases of the brewer's yeast strains.....	73
5. The preliminary study on the identification of the brewer's yeast mutant strains by RAPD.....	76
CHAPTER 4 DISCUSSIONS and CONCLUSION	82
1. The screen of fine brewer's yeast strain.....	82
2. The analysis of the ILV2 gene of SM-resistant strains and their parent strains.....	89
3. Analysis of invertases and diacetyl reductases activity of the brewer's yeast strains...	89

4. The preliminary study on the identification of the brewer's yeast mutant strains by RAPD	92
5. Summary	92
REFERENCES	93
ACKNOWLEDGEMENTS	100

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘要

啤酒酵母是保证啤酒质量的关键,因此优良啤酒酵母菌种的选育具有重要的意义。本文在含甲磺隆(SM)的培养基上分离抗SM自发突变酵母菌株;用氩激光、甲基磺酸乙酯和亚硝酸诱变啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)后,在含 $175\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 双乙酰或 0.01% 2-脱氧葡萄糖的培养基上分离突变株;筛选具有发酵度较高、总高级醇生成量适中、低产双乙酰、低产乙醛等特性,且遗传性稳定的优良菌株,并测定了优良菌株的转化酶和双乙酰还原酶的活性,以及运用RAPD分子标记技术对优良突变株及其亲株进行RAPD分析。

从实验室保藏的啤酒工业酵母菌种分离SM抗性自发突变株,筛选得到几株优良的突变株。其中SM抗性株ZT14-9-1和ZT21-9-2的500L发酵罐发酵试验结果表明,它们的发酵度较高,发酵液中的主要风味物质双乙酰、乙醛、总高级醇和乙酸的含量均符合优质啤酒的要求,发酵的酒液口感都较好。与其亲株对比,SM抗性株ZT21-9-2和ZT14-9-1的*ILV2*基因中分别有7个和9个碱基发生突变,而且都有3个G(鸟嘌呤)、2个T(胸腺嘧啶)和1个C(胞嘧啶)发生突变。

用氩激光诱变啤酒酵母BX24和JWN1-4,筛选得到几株发酵特性优良的突变株。其中突变株AG14-1-7的500L发酵罐发酵试验结果表明,发酵11天发酵液的发酵度为69.6%,双乙酰、乙醛、总高级醇和乙酸的含量分别为 $0.0230\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.37\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $63.28\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $84.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。菌株AG14-1-7生产的啤酒具有 β 酒花油香味、口感柔和、协调,有很好的应用前景,目前正在扩大发酵规模作进一步试验。

用甲基磺酸乙酯(EMS)诱变菌株BX24和JW1-3,筛选得到几株发酵特性优良的突变株。其中突变株ED24-4-2发酵11天发酵液的发酵度为69.7%,双乙酰、乙醛、总高级醇和乙酸的含量分别为 $0.0290\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $3.13\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $72.93\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $87.75\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。该菌株生产的啤酒口感较好,有很好的应用前景。

用亚硝酸诱变啤酒酵母JY2-2,筛选得到几株发酵特性优良的突变株。其中突变株NG22-5,用500mL三角瓶装300mL 11.5°Bx 麦汁在 12°C 下发酵8d,发酵度为67.3%,发酵液的双乙酰($0.0579\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、乙醛($5.61\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和高级醇($76.66\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的含量分别比出发菌株JY2-2的降低17.40%、14.87%和15.17%,该菌株有待扩大发酵规模进一步考察其发酵性能。

对所获得的优良突变株及其亲株的转化酶和双乙酰还原酶的活性分析结果显示, 优良突变株的这两种酶的活性都比其亲株的高。菌株的 RAPD 分析表明, 菌株 JWN1-4 与 AG14-1-7、菌株 BX24 与 ED24-4-2、菌株 JY2-2 与 NG22-5 的遗传相似系数分别为: 0.777、0.793、0.769, 说明突变株与其亲株具有密切的亲缘关系, 但它们在 DNA 水平上也存在显著的差异。

关键词: 啤酒酵母, 菌种选育, 转化酶, 双乙酰还原酶, *ILV2* 基因, RAPD 分析

Abstract

Brewer's yeast is the key factor that guarantees the quality of beer. So the selection of the fine strains is significant. The sulfometuron methyl (SM)-resistant brewer's yeast spontaneous mutants were isolated on the the plate agar containing SM. *Saccharomyces cerevisiae* strains were mutated by argon-laser, ethylmethane sulfonate (EMS) and nitrous acid, respectively. The mutants were separated on the plate agar containing diacetyl $175 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ or 0.01% 2-deoxigen glucose (2-dG.) The fine strains with high fermentation degree, suitable content of total higher alcohols, low content of diacetyl and acetaldehyde in the fermented liquid, as well as stability heredity were screened. The activities of invertases and diacetyl reductases of fine mutants and their parent strains were determined. The mutants and their parent strains were analyzed by Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD).

Sulfometuron methyl (SM)-resistant spontaneous mutants were isolated from the brewer's yeast strains kept in our laboratory and several fine strains were obtained after screening. The fermentation of SM-resistant mutants ZT14-9-1 and ZT21-9-2 in 500L fermentor suggested that their fermentation characteristics were according with the demands of the industrial production. The sensory evaluation of the beer produced by them was better than that of producing strain. Compared the DNA sequences of the *ILV2* gene of SM-resistant mutants ZT21-9-2, ZT14-9-1 and their parent strains, it was found that there were seven and nine bases mutations respectively and the common characters of mutation of three guanines (G), two thymines (T), and one cytosine(C) in the *ILV2* gene of ZT21-9-2 and ZT14-9-1.

Anti-glucose repression mutants AG14-1-7 with great fermentation characteristics was screened after argon-laser mutagenesis. The fermentation of mutants AG14-1-7 in 500L fermentor for 11 days suggested that the fermentation degree of mutant AG14-1-7 was 69.6%, the contents of diacetyl, acetaldehyde, total high alcohols and acetate in the fermented liquid were respectively $0.0230 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $1.37 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $63.28 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $84.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The beer produced by strain AG14-1-7 was of the property of β -hops oil fragrant smell and soft mouth feel.

Several fine mutant strains were obtained after mutating *Saccharomyces cerevisiae* strains BX24 and JW1-3 by EMS. The fermentation of diacetyl -resistant fine mutants ED24-4-2 in 500L fermentor for 11 days suggested that the fermentation degree of mutant ED24-4-2 was 69.7%, the contents of diacetyl, acetaldehyde, total high alcohols and acetate in the fermented liquid were respectively $0.0290 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $3.13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $72.93 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $87.75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The sensory evaluation of the beer produced by the mutant ED24-4-2 was nice. The mutant ED24-4-2 is of potentially applicability to beer brewing.

The strain JY2-2 was mutated by nitrous acid. Several fine mutant strains were obtained after screening and the fermentation character of anti-glucose repression mutant NG22-5 was the best among the mutants. The fermentation of mutants NG22-5 in 500mL flask with 300mL 11.5°Bx wort at 12°C for 8 days showed that the fermentation degree was 67.3%, the content of diacetyl, acetaldehyde and total higher alcohol in the fermented liquid were $0.0579 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $5.61 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $76.66 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 17.40%, 14.48% and 15.17% lower than that of the original strain JY2-2 respectively. In order to inspect further the characters of beer brewing of mutant strain NG22-5, the test expanding fermented scale will be performed.

The analysis results of activities of invertases and diacetyl reductases of fine mutants indicated that the enzymatic activities of the mutants were stronger than that of their parent strains. The genetic similarity between strain JWN1-4 and AG14-1-7, BX24 and ED24-4-2, JY2-2 and NG22-5 analyzed by RAPD were respectively 0.777, 0.793, 0.769, it was proved that there were closely genetic relationships between mutant strains and their parent strains, but also remarkable differences at DNA level.

Key words: brewers yeast, yeast selective breeding, invertases, diacetyl reductases, *ILV2* gene, RAPD

第一章 前言

一、啤酒的历史

人类有文字记载的历史有 5000 年左右，但人类酿造啤酒的历史可以追溯到 10000 年前的创世之初，即人类开始种植谷物的时代^[1]。古代啤酒的成因众说纷纭，莫衷一是。但有一点是毋庸置疑的，大麦是啤酒诞生的首要条件。古代的啤酒原料主要是大麦，其次是小麦和黑麦，所以那时的人们把它叫麦酒、大麦液、大麦酒。产生啤酒的另一个先决条件是容器。那时的陶器是古人生活中的必需品，新石器时代最重要的新技术之一就是发明了陶器。

啤酒的历史非常的悠久，可以说啤酒是历史上记录最早的世界性饮料。古希腊哲学家柏拉图曾说过，发明啤酒的人是最大的智者。如果说中东远古的苏美尔人发明了啤酒的话，那么古埃及人将啤酒作为日常饮品，创造了古代啤酒的辉煌；由于宗教的原因，当古代啤酒在中东消失之时，欧洲人在漫长的中世纪，建立了无数的啤酒作坊，保留了啤酒的火种；日尔曼人薪火相传，以他们无穷的智慧发展了啤酒，率先将啤酒花应用于啤酒酿造，形成了现代啤酒的概念。17 世纪开始，啤酒的火种从欧洲撒向全世界星火燎原。啤酒最终成为名副其实的世界饮品，从而造福全人类^[2]。

19 世纪末，洋啤酒随着坚船利炮得以登陆中国市场，上海街头出现了欧洲来的“皮”酒广告。1900 年开始，俄国人和德国人相继在哈尔滨和青岛设立啤酒作坊和小型工厂生产啤酒。1904 年，哈尔滨出现了首家中国人办的啤酒厂：东北三省啤酒厂，迈出了中国啤酒业的第一步。1915 年之后，中国人在北京、烟台、上海、广州等地陆续建厂，实现洋啤酒国产化，意义十分深远^[3]。解放后，中国啤酒业得到了迅速的恢复和发展。改革开放后，啤酒产量更是突飞猛进。

二、啤酒的营养功用

啤酒消费的增长和啤酒工业的发展不仅与经济发展水平相适应，也与啤酒的营养价值丰富，是一种健康的饮料酒有关。啤酒中糖和蛋白质的比例最符合人类的营养平衡，所含蛋白质几乎完全被人体吸收和利用。每升啤酒的热量可达 430 卡，相当于 6-7 枚鸡蛋、0.75 升牛奶或 50 克奶油。啤酒含有 17 种氨基酸，多种维生素及矿物盐等物质。

1972年7月1日在墨西哥召开的第九次世界营养食品会议上,把啤酒正式列为营养食品^[4]。这是因为,啤酒具备营养食品三个重要条件:(1)啤酒含有多量和多种氨基酸;(2)啤酒含有较高的发热量;(3)易被人体消化和吸收。

啤酒的营养特点(1)卫生:啤酒是以麦芽、大米、酒花、啤酒酵母和水为原料,在不锈钢设备中经过精心酿造而成,整个生产过程卫生监控严格,环境清洁,不添加人工化学制剂、色素和防腐剂,是绝对可靠的天然纯食品。(2)防病:
①加速新陈代谢:啤酒中低含量的酒精、核酸能增加大脑血液的供给,扩张冠状动脉,并通过提供的血液对肾脏的刺激而加快人体的代谢活动;
②预防高血压:啤酒是低钠饮料,可减少人体对钠的过量吸收而预防高血压;
③减少心脏病发病机率:据美国加州奥克兰大市的帝王永久医疗中心的试验表明,啤酒中的叶酸有助于降低人们血液中的半胱氨酸,而半胱氨酸含量高是心脏病诱发因素之一。(3)酒花是"绿色黄金":波兰医学家认为啤酒花可治失眠症、神经衰弱症、骨质疏松、动脉硬化及消化不良等症,用啤酒花泡茶能辅助治疗肾脏疾病;近年来,日本又大量报导了酒花具有抗癌作用,因此酒花有"绿色黄金"之称。(4)延缓衰老:现代医学研究发现,人体中代谢产物--超氧离子和氧自由基的积累,会引发人类的心血管、癌症和加速衰老。啤酒中存在着多类抗氧化物质,例如谷胱甘肽可消除人体内的氧自由基,是人们公认的延缓衰老的有效物质,荷兰科学家甚至认为啤酒保健作用更优于葡萄酒。(5)利尿:啤酒富含矿物质,可保持人体细胞内外渗透压平衡,有利于人们解渴和利尿。

三、我国啤酒工业的现状和展望

啤酒工业属于轻工业。而轻工业是我国消费品工业的主体。我国已成为世界轻工产品生产大国,一些主要产品产量居世界前列,例如啤酒的产量就位居世界首位。近20年来,我国经济大发展,迎来了啤酒业的黄金时期。1993年啤酒产量1300万千升,超过德国,居世界第二位;2002年产量2375万千升,超过美国,成为世界第一啤酒生产大国^[5],2007年仅1月至6月的啤酒累计产量为1871.1万千升,比2006年同期增长16.16%。中国是一个啤酒产销大国,啤酒产销量连续5年位居世界第一,以至于国外诸多资本纷纷涌入;但我国又是一个啤酒小国,在世界许多国家的主流消费场所,人们都很难找到中国品牌的身影。而且,我国啤酒产量的绝对值虽然相当大,但人均啤酒消费量却低于世界水平。因此,我国

啤酒市场的潜力巨大。

目前,我国啤酒工业发展呈现新的特征:啤酒企业规模不断扩大,集团化、规模化稳步发展。随着我国啤酒工业的发展,从2001年开始,我国啤酒出口量连年增加,到2003年出口量达到15万千升,出口额达7600万美元,超过进口量和进口额。青岛啤酒是我国出口啤酒最多的企业,占全国出口总量的50%以上,在海外深受欢迎。青岛啤酒、嘉士伯、深圳金威、哈尔滨啤酒和燕京啤酒等五个品牌出口量占全国出口总量的86%。

虽然我国啤酒工业发展迅速,但我国啤酒工业还存在一些问题:啤酒行业经济效益未能随产量同步增长,与国际先进水平相比仍有较明显的差异。今后必须坚持品牌建设,以品牌竞争取代价格竞争,建立企业核心竞争力。建立企业核心竞争力之重要的方面,是产品应具有较强的差异性,生产技术保持相对优势地位,从而为消费者提供更有特色的啤酒^[6]。

四、影响啤酒风味的主要物质

啤酒发酵分为主发酵期和成熟期两个阶段。在主发酵期,啤酒酵母将麦芽汁转化成嫩啤酒并代谢形成风味物质。成熟期是指酵母停止生长到啤酒澄清这一阶段,传统的方法是将啤酒在低温下贮存3-6周。在此期间发酵液中的二氧化碳达到饱和,不溶物质通过沉降除去,胶体稳定性得到改善和啤酒风味成熟。其中除了风味成熟,其它各项均能在短时间内完成,如采用人工充CO₂、离心法分离酵母、添加一些非生物稳定剂(硅胶、单宁酸、蛋白酶等)吸附、沉淀及分解那些高分子蛋白质和多酚物质,从而达到缩短后酵时间并满足以上后酵和贮藏的目的。因此,啤酒的风味成熟成为啤酒后酵和贮藏的时间限制因素,如果能缩短啤酒风味的成熟时间,就可以减少啤酒的总发酵时间。啤酒风味不成熟不是由于缺少某些物质,而是由于在主发酵期间,酵母代谢产生影响啤酒风味的某些代谢物质没有排除到人们能够接受的程度。啤酒风味成分主要有挥发性酯类、醇类、羰基化合物、酸类、酚类化合物及含硫化合物等,来源于啤酒的原料大麦芽及其它谷物辅料、酒花和酵母的发酵作用。

1、双乙酰

双乙酰是啤酒发酵过程中酵母菌产生的一种代谢副产物,它在啤酒中的含量超过其阈值就会给啤酒带来一种馊饭味,因此双乙酰是影响啤酒质量的关键因素

之一，也是决定啤酒成熟与否的重要标志。双乙酰的风味阈值 ($0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 比较低，对淡爽型的淡色储藏啤酒来说，双乙酰含量以控制在 $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下为宜，对高档啤酒的要求，最好控制在 $0.05\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下^[7]。在啤酒中，双乙酰的含量不仅影响啤酒的风味，而且它的积累与还原还影响啤酒的成熟度，成为缩短啤酒发酵周期的重要限制因素。因此，选育低双乙酰啤酒酵母菌种具有降低成本、提高生产能力的重要意义。

1.1 双乙酰的形成

由图 1.1 可见，双乙酰是酵母异亮氨酸、缬氨酸生物合成途径中的副产物，是由 α -乙酰乳酸经非酶促的氧化脱羧反应自发产生的。研究结果^[8]表明，所有测定过的酵母及其他微生物在形成缬氨酸的过程中均产生过量的 α -乙酰乳酸。原因是催化乙酰乳酸的一个碳原子转移到邻位碳原子还原成二羟基异戊酸 (DHIV) 的乙酰乳酸还原异构酶 (RI) 其效率非常之低。这样使前体物质 α -乙酰乳酸积累，一部分分泌出细胞进入啤酒中，慢慢转化成连二酮-双乙酰。一部分双乙酰又被酵母吸收还原成乙偶姻 (3-羟基丁酮)，然后还原成丁二醇 (见图 1.2)。乙偶姻在啤酒中的含量很低 ($15\text{-}20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为正常值)，且味阈值较高 ($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)，2,3-丁二醇的味阈值也较高，因此它们对啤酒风味几乎没有不良影响^[9]。从图 1.2 中还可以看出，乙酰乳酸脱羧酶 (acetolactate decarboxylase) 可以直接将乙酰乳酸降解成乙偶姻，而不形成双乙酰，但遗憾的是啤酒酵母中不含有此酶。

1.2.1 选用优良的酵母菌种

α -乙酰乳酸是双乙酰的前体物，催化 α -乙酰乳酸生成的酶是 α -乙酰乳酸合成酶。不同酵母菌株具有不同的 α -乙酰乳酸合成酶活力，形成双乙酰前体物质的差异很大。因此要使啤酒中的双乙酰含量降低，应选用较低的 α -乙酰乳酸合成酶活力的菌株。编码 α -乙酰乳酸合成酶（EG 4.1.3.18）的基因已被鉴定，命名为*ILV2*，它位于酵母细胞染色体XII上^[11]。

就同一酵母菌株而言，接种量愈高，新生细胞愈少，双乙酰前体物质形成的峰值也愈低。在同等条件下，强壮的酵母对双乙酰的还原能力大；反之，若酵母衰退、发酵迟缓、贮存时间长或高温贮存，则发酵力就弱，其还原双乙酰的能力低，生成双乙酰的量就多。凝集性强、沉淀快和分散不良的酵母，还原双乙酰慢。酵母变异，混有呼吸缺陷型的小菌落变异株(Petite)会增加 α -乙酰乳酸的积累和减少对双乙酰的还原，足以使双乙酰含量远远超过其味阈值。因为这种变异株不同程度地降低了缬氨酸、异亮氨酸生物合成途径中的各种酶的活力。

1.2.2 优化发酵工艺

有关啤酒发酵过程中啤酒酵母代谢产物双乙酰形成的控制与调节已有许多研究报道^[12-14]。下面就一些发酵条件对双乙酰形成的影响作一简要介绍。

控制麦汁质量：作为双乙酰形成的前体物质 α -乙酰乳酸，是缬氨酸生物合成中的副产物，增加发酵液中缬氨酸的含量，就可以反馈抑制酵母中 α -乙酰乳酸形成，减少双乙酰的生成量，降低酵母的还原负荷，而啤酒发酵液中缬氨酸的含量是随麦芽汁中 α -氨基酸的含量增高而增加的，因此，适当提高麦芽汁中 α -氨基酸的含量，就可以在一定程度上减少发酵液中双乙酰的含量。一般认为，麦芽汁中 α -氨基酸控制在180-200 mg·L⁻¹时，可以减少发酵过程中双乙酰的形成。

控制麦汁的pH值：将接种麦汁的pH值降低至4.4左右，在此pH值下既不影响发酵速度，又可减少 α -乙酰乳酸的生成量，但 α -乙酰乳酸分解为双乙酰的速度加快。

提高主发酵温度：适当地提高主发酵温度是公认的降低双乙酰含量的有效措施。提高发酵温度可以加快 α -乙酰乳酸向双乙酰的转化，只有转化成双乙酰，才有双乙酰还原的发生。

提高罐压：当外观发酵度达70%以上，外观糖度降至3.5°P时，将罐压由

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库