

学校编码: 10384

学号: 200426041

分类号 _____ 密级 _____

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

几株优良啤酒酿造酵母菌株
的选育及其中试

Several Fine Brewer's Yeast Strain Screening
and Their Pilot Scales

由 媛

指导教师姓名: 刘月英教授

钱晓鸣副教授

专业名称: 微生物学

论文提交日期: 2007年4月

论文答辩时间: 2007年5月

学位授予日期: 2007年 月

答辩委员会主席: 宋思扬

评 阅 人: _____

2007年6月

目 录

摘要.....	1
ABSTRACT.....	2
第一章 前言.....	4
一 啤酒的营养价值及发展历史.....	4
二 我国啤酒工业发展概况.....	4
三 啤酒的分类.....	5
四 啤酒中的双乙酰.....	6
五 啤酒中的高级醇.....	11
六 啤酒中的其它风味物质.....	13
七 优良啤酒酿造酵母菌株的选育.....	16
八 立题的背景及研究的目的意义和内容.....	21
第二章 材料与方法.....	23
一 材料.....	23
二 方法.....	25
第三章 结果与分析.....	32
一 啤酒酵母菌株 XB05 的激光诱变.....	32
二 啤酒酵母菌株 XB05 的紫外线和 EMS 连续诱变.....	39
三 单亲灭活的原生质体融合.....	49
四 双亲灭活的原生质体融合.....	54
五 融合株及其亲株的生物学特性测定.....	60
第四章 讨论.....	62
一 激光对啤酒酵母菌株 XB05 的诱变.....	62
二 紫外线和 EMS 对啤酒酵母菌株 XB05 的连续诱变.....	63
三 啤酒酵母的原生质体融合.....	64
四 啤酒酵母原生质体的形成、再生与融合条件的探讨.....	65

五 优良啤酒酿造酵母菌株的筛选.....	66
六 啤酒酵母突变株 JY2-2 和 EY4-2 的生产性试验.....	67
七 啤酒酵母融合株及其亲株的生物学特性.....	68
小结.....	69
参考文献.....	71
附录.....	78
致谢.....	79

厦门大学博硕士学位论文摘要库

CONTENTS

ABSTRACT(In Chinese)	1
ABSTRACT(In English)	2
CHAPTER 1 INTRODUCTION	4
1. Nutrition and History of Beer.....	4
2. History and developed Prospect of Beer Brewing Industry in China.....	4
3. Classification of Beer.....	5
4. Diacetyl in Beer	6
5. Total Higher Alcohols in Beer	11
6. Other Components influencing Beer's Flavor.....	13
7. Screening of Brewer's Yeast Strain.....	16
8. Objective, Significance and Contents of this research	21
CHAPTER 2 MATERIALS and METHODS	23
1. Materials.....	23
2. Methods.....	25
CHAPTER 3 RESULTS and ANALYSIS	32
1. Mutagenesis of Strain XB05 with Laser.....	32
2. Continual Mutagenesis of Strain XB05 with Ultraviolet Rays and EMS	39
3. Protoplast Fusion with Single Parent's Protoplast Inactivated.....	49
4. Protoplast Fusion with Two Parents' Protoplast Inactivated.....	54
5. Biological Characters of Fusants and their Parents.....	60
CHAPTER 4 DISCUSSIONS	62
1. Mutagenesis of Strain XB05 with Laser.....	62
2. Continual Mutagenesis of Strain XB05 with Ultraviolet Rays and EMS.....	63

3. Protoplasts Fusion between Yeast Strains.	64
4. Research on Conditions of Formation, Regeneration and Fusion of Yeast Protoplast.	65
5. Screening of Fine Brewer's Yeast	66
6. Productive Tests of Mutants JY2-2 and EY4-2	67
7. Biological Characters of Fusants and their Parents	68
SUMMARIZATION.	69
REFERENCES.	71
APPENDIX.	78
ACKNOWLEDGEMENTS	79

厦门大学
博士学位论文
摘要

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘要

啤酒酵母菌种是啤酒生产的关键。因此选育优良的啤酒酿造酵母菌株是啤酒工业的一项重要任务。本研究采用物理化学诱变和原生质体融合的方法，选育具有低产双乙酰、乙醛和总高级醇等优良特性的啤酒酿造酵母菌株。

啤酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) XB05 经半导体激光诱变，筛选得到一株发酵特性优良的菌株 JY2-2。突变株 JY2-2 的 500L 发酵罐发酵试验和 120t、240t、360t 发酵罐生产性试验结果均表明，该菌株具有发酵能力强，双乙酰还原速度快，发酵液中的双乙酰、乙醛和总高级醇的含量较低等特性，且优良特性稳定。该菌株生产的啤酒口感良好，现已投入啤酒酿造生产。

用紫外线和甲基磺酸乙酯 (EMS) 连续诱变菌株 XB05，在含双乙酰的麦芽汁固体培养基上分离抗双乙酰的菌株。通过筛选，得到 3 株发酵特性优良的菌株 EY2-4、EY2-9 和 EY4-2。其中突变株 EY4-2 的 500L 发酵罐发酵试验和生产性试验结果表明，该菌株的双乙酰还原能力较强、还原速度较快，并且在提高发酵液 pH 值、改善酸感、降低醋酸方面优势显著。该菌株生产的啤酒口感和风味良好，具有很好的应用前景。

用热灭活的菌株 JY2-3 原生质体和紫外线灭活的 X6-5-3 原生质体为亲本进行融合构建新菌株。运用正交试验法，优化了菌株 JY2-3 和菌株 X6-5-3 的原生质体融合条件。通过筛选得到 7 株发酵特性较好的菌株，编号为 SRY21、SRY34、SRY58、SRY70、SRY73、SRY74 和 SRY75。测定了这 7 个菌株和其亲株的细胞大小、DNA 含量和生物量，初步研究结果表明，这 7 个菌株为融合株。

对融合株 SRY21 进行 500L 罐发酵。结果表明，融合株 SRY21 发酵度较高，发酵结束时为 69.6%，发酵液中双乙酰、乙醛和总高级醇的含量分别为 0.0223 mg/L、3.80 mg/L 和 63.42 mg/L。融合株 SRY21 发酵的啤酒口感较好。

关键词：啤酒酿造酵母；物理化学诱变；原生质体融合；发酵特性；中试

Abstract

Brewer's yeast strain is the key to the beer brewage production. So it is an important task to select an excellent yeast strain. In the study, physical and chemical mutagenesis and protoplast fusion technique were used to select strains with low-yielding diacetyl, acetaldehyde, total higher alcohols and other excellent characteristics.

The strain JY2-2 with excellent fermentation characteristics was obtained from strain XB05 after mutation by semiconductor laser. The results of tests carried out in the 500L, 120t, 240t and 360t fermentation tanks indicated that the mutant JY2-2 was of strong ability of fermentation and diacetyl removal. The contents of diacetyl, acetaldehyde and total higher alcohols in the fermented liquid were relatively low and these characteristics were stable. The sensory evaluation of the beer produced by the mutant JY2-2 was very nice. The strain JY2-2 has been applied to the beer brewing.

Three strains EY2-4, EY2-9 and EY4-2 were obtained from strain XB05 after continual mutation by ultraviolet and EMS and screening anti-diacetyl strains by flask fermentation.

The results of tests carried out in 500L fermentation tanks and productive tests showed that the mutant EY4-2 was of strong ability on diacetyl removal and had the advantage in rising pH value of the fermented liquid. The sensory evaluation of the beer produced by the mutant EY4-2 was nice. Strain EY4-2 is of well applied prospect on the beer brewing.

The protoplast fusants were constructed with the protoplasts of UV-inactivated X6-5-3 and heat-inactivated JY2-3. The conditions of protoplast fusion between X6-5-3 and JY2-3 were researched with orthogonal experiment. Seven fine strains SRY21、SRY34、SRY58、SRY70、SRY73、SRY74 and SRY75 were obtained after selection. The cell volume, biomass, DNA contents of them were measured in comparison with their parental strains and the results showed that these strains were fusants.

The fermentation tests of strain SRY21 were conducted in the 500L fermentation tanks. The results indicated that strain SRY21 was of strong fermentative ability (fermentative degree of 69.6%), the contents of diacetyl, acetaldehyde and total higher alcohols were 0.0223 mg/L, 3.80 mg/L and 63.42 mg/L at the end of the fermentation, respectively. The sensory of the beer SRY21 produced was relatively nice.

Key words: brewer's yeast; physical and chemical mutagenesis breeding; protoplast fusion; fermentative property; pilot scale

第一章 前言

一 啤酒的营养价值及发展历史

啤酒是用大麦芽和具有芳香气味的啤酒花为主要原料,经过糖化和酵母发酵而酿制出来的一种含二氧化碳的低浓度酒精饮料。啤酒的性味凉而苦涩,但苦味清爽,苦中有甜,也是一种营养饮料,除含有糖类、酒精及二氧化碳气体之外,还含有多种维生素、矿物质和 17 种氨基酸。所加入的啤酒花,又称香蛇麻草,是一种有显著利尿功能的中药药材^[1]。所用麦芽中含有钙、草酸和鸟核苷酸等营养成分。啤酒中的营养成分绝大部分都能被人体所吸收,适量饮用也有一定的活血、开胃和帮助消化的作用,对高血压、心脏病、肝炎、胃肠功能紊乱、腹泻、便秘、肾脏病、肺病和神经衰弱等病人的健康恢复有帮助或有积极的治疗作用^[2]。因此,素有液体面包之称的啤酒,1972 年 7 月 1 日在墨西哥召开的第九次国际营养食品会议上被确定为营养食品之一^[3],深受世界各国人民的喜欢。

啤酒的历史可以追溯到公元前 4000 到 8000 年。古代的啤酒生产是家庭作坊式。1837 年,在丹麦的哥本哈根城里诞生了世界上第一个工业化生产瓶装啤酒的工厂,啤酒从此进入工业化生产。1873 年的冷冻机的发明,带来了低温储藏啤酒的兴盛。1865 年加热杀菌法的发现使得啤酒的长期保存、远距离运输成为可能。1881 年汉森确立了用单一酵母进行繁殖的纯粹培养法,对啤酒品质的提高做出了非凡的贡献。再以后,蒸汽机和内燃机的发明、制瓶技术的进步等等确立了啤酒制造作为现代工业的基础。现在,啤酒制造机器、分析技术、管理技术等方面都有了长足的进步,啤酒的质量有了进一步的提高。现在,啤酒是世界上产量最大的酒种,1977 年世界总产量为 8400 万吨,1986 年达到 1 亿吨,2000 年达到 1.4 亿吨,而且仍以年产量 200 万吨以上的速度递增。

二 我国啤酒工业发展概况

我国古代的原始啤酒酿造距今已有 4000 至 5000 年的历史,但是市场消费的啤酒是到 19 世纪末随帝国主义洋枪洋炮一起进来的。在中国建立最早的啤酒厂是 1900 年俄国人在哈尔滨八王子建立的乌卢布列夫斯基啤酒厂^[4]。1903 年英国和德国商人在青岛开办英德酿酒有限公司,年生产能力为 2000 吨,这就是现在青岛

啤酒厂的前身。1904年在哈尔滨出现了中国人自己开办的啤酒厂—东北三省啤酒厂。1935年广州出现了五羊啤酒厂，是现在广州啤酒厂的前身。

建国后天津、杭州、武汉、重庆、西安、兰州、昆明等大城市相继投资新建了一批年生产规模在 2000 吨左右的啤酒厂，成为我国啤酒业发展的一批骨干企业。1979 年，全国啤酒厂总数达到 90 多家^[5]，啤酒产量达 37.3 万吨，比建国前增长了 50 多倍。1988 年我国大陆啤酒厂家发展到 813 个，总产量达 656.4 万吨，我国成了名符其实的啤酒大国。1993 年，我国啤酒产量居世界第二，仅次于美国。2002 年全国啤酒总产量 2386.83 万吨，超过美国，成为世界第一大啤酒生产国^[6]。2005 年，中国啤酒业虽有三成多的企业处于亏损经营状态，但仍然以 10.3% 的增长率和 3061.56 万吨的总产量再创新高，并且提前五年实现了 2010 年的发展规划目标，成为我国改革开放以来发展最好的产业之一。虽然总产量稳居第一，但是人均啤酒消费量仍远远低于世界平均水平。目前世界平均水平是 30 升，欧美国家人均年消费啤酒已超过 80 升。我国人均啤酒消费量虽然已接近 22 升，但中西部地区却仅在 10 升左右，8 亿多人口的农村人均连 5 升都不到。因此随着我国居民（特别是农村居民）的消费水平的不断提高，国内啤酒需求量将继续增大，我国的啤酒市场潜力巨大。

三 啤酒的分类

啤酒的分类方法有很多，大致可以按照原麦汁浓度、啤酒色泽、杀菌方式和酵母种类等分类。

根据原麦汁浓度主要分为18、16、14、12、11、10、8度啤酒。日常生活中我们饮用的啤酒多为11、12度啤酒。

根据啤酒色泽分为：淡色啤酒、浓色啤酒和黑色啤酒^[7]。淡色啤酒为啤酒产量最大的一种，又分为淡黄色啤酒和金黄色啤酒。淡黄色啤酒口味淡爽，酒花香味突出。金黄色啤酒口味清爽而醇和，酒花香味也突出。浓色啤酒色泽呈红棕色或红褐色，麦芽香味突出、口味醇厚、酒花苦味较清。黑色啤酒色泽呈深红褐色乃至黑褐色，产量较低，麦芽香味突出、口味浓醇、泡沫细腻，苦味根据产品类型而有较大差异。

根据杀菌方法分为：鲜啤酒、熟啤酒和纯生啤酒。鲜啤酒即包装后不经巴氏灭菌的啤酒，这种啤酒味道鲜美，但容易变质，保质期7天左右。熟啤酒是经过

巴氏灭菌的啤酒，可以存放较长时间，优级啤酒保质期为120天。纯生啤酒是指不用巴氏灭菌，而采用超滤等方法进行无菌处理的啤酒^[3]。

按照发酵啤酒用的酵母分类，啤酒家族可以被分成两大系：上层发酵啤酒和下层发酵啤酒。上层发酵就是发酵使用的酵母浮在液体表面，用这种酵母制成的啤酒叫上层发酵啤酒，一般上层发酵要在 15~25℃的较高温中发酵；相反，发酵时酵母沉入液体底部的酵母，就叫下层酵母。用下层酵母发酵时，温度最高也不过 8~12℃，之后还要低温储藏，慢慢让它自己熟化。

四 啤酒中的双乙酰

双乙酰是影响啤酒风味的重要物质，是决定啤酒是否成熟的重要指标。双乙酰水溶液具有一种特殊的类似于酸败的米糠味（俗称馊饭味），因此，它在啤酒中的含量应该被控制，最好能控制在其口味界限以下(0.1mg/L)^[8]。

七十年代初，发现双乙酰的形成与消失与啤酒的成熟有一定的相关规律，即在主发酵期大量形成，随着发酵和贮酒过程的进行逐步降低。因而，主张以双乙酰含量的变化作为啤酒成熟的标志之一^[9,10]。之后，又发现在啤酒生产过程中，虽然双乙酰的形成是必然的，但其含量的变化又是可以控制的，有时甚至在发酵结束时就能将双乙酰的含量控制得很低，这样，双乙酰含量的控制又成为了啤酒酿造过程中缩短贮酒酒龄的一个依据。因此，对双乙酰含量的控制，已经是啤酒成熟概念中不可缺失的指标。

1 啤酒生产中双乙酰的形成机制和代谢途径

啤酒酵母双乙酰的形成与缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的合成途径如图1所示：

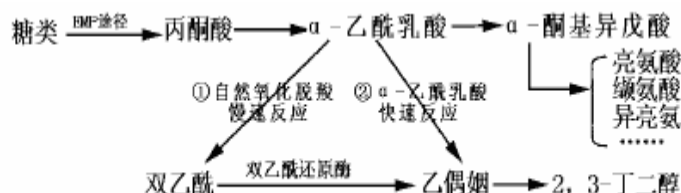


图1 啤酒酵母的双乙酰形成与缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的合成途径^[11]

Fig 1 The biosynthesis of Valine, Leucine and Ieucine and the formation of diacetyl

当酵母生产繁殖需要大量合成缬氨酸时，丙酮酸被大量转化为 α -乙酰乳酸，这就为双乙酰的生成提供了条件。在缬氨酸合成的途径中，中间产物 α -乙酰乳酸经非酶氧化脱羧后形成双乙酰。而由于乙酰羟基同分异构还原酶(RI)效率非常低^[12]，使得双乙酰前体物质 α -乙酰乳酸得以积累。同时由于淡色啤酒的发酵和后熟均在低温下进行，使得 α -乙酰乳酸的非酶促催化脱羧及双乙酰还原的速度相对变慢，这也造成了 α -乙酰乳酸的积累，从而延长了发酵周期。

2 降低双乙酰的方法

2.1 遗传育种的方法

2.1.1 缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸营养缺陷型酵母菌株的筛选

缬氨酸能通过反馈抑制 α -乙酰乳酸的生成来影响双乙酰的生成量。所以通过对缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸的合成途径（图1）进行遗传上的改造，选育降低或经诱变削弱乙酰羟氨酸合成酶的催化功能的菌株来实现。也就是通过对啤酒酵母的诱变筛选，选育出缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸营养缺陷型菌株，因其缺少乙酰羟氨酸合成酶而较少积累 α -乙酰乳酸，导致较少生成双乙酰。但在实际应用中此诱变也带来营养缺陷型菌株在利用麦芽糖发酵能力较差的负面效应，因而影响其应用于生产实践。

2.1.2 双乙酰还原能力强的酵母菌株的筛选

酵母在代谢过程中只能合成双乙酰的前体物质 α -乙酰乳酸，由于酵母细胞体内产生 α -乙酰乳酸分泌到细胞外，经过非酶促氧化生成双乙酰。双乙酰又可以通过细胞膜进入酵母细胞体内，由双乙酰还原酶还原成乙偶姻（如图2），乙偶姻转化成2,3-丁二醇。乙偶姻和2,3-丁二醇对啤酒风味无不良影响^[13]。可以筛选抗双乙酰突变型菌株，即能够迅速将双乙酰还原成乙偶姻，使得啤酒成品中双乙酰含量较低^[14]。通过啤酒酵母在不同的双乙酰含量梯度的培养基内培养，筛选到在高浓度双乙酰含量培养基中，能正常的进行代谢活动的抗双乙酰的变异菌株。唐晓达等人^[15]，用含1mg/L双乙酰的麦芽汁对啤酒酿造酵母菌株A进行驯化，经涂布含双乙酰的固体选择培养基，筛选分离得到一种双乙酰还原速度比亲株快的新菌株。张智维等人^[16]，采用激光对酵母菌种进行诱变处理后，在含双乙酰的固体培养基上挑取单菌落，经过三角瓶低温发酵筛选出发酵液中双乙酰含量低于亲株的诱变株。抗双乙酰的啤酒酵母菌株的双乙酰还原能力强，生理性状表现为

呼吸作用强，发酵旺盛，而且后酵期有足够的细胞数量悬浮在啤酒中。

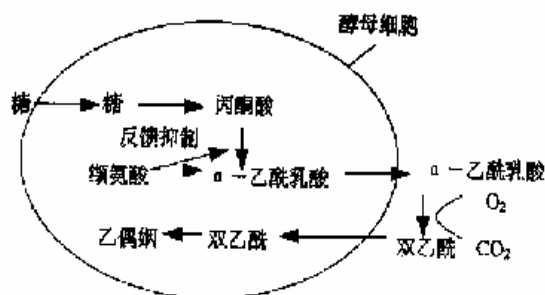


图 2 双乙酰在啤酒发酵中的产生和还原^[17]

Fig 2 The formation and removal of diacetyl during the beer brewing

2.1.3 筛选除草剂SM抗性菌株

人们在研究除草剂Sulfometuron methyl(SM)对植物及细菌的生长抑制时发现，SM的攻击位点不是光合成途径中的酶，而是 α -乙酰乳酸合成酶（ALS）和乙酰羟酸合成酶（AHAS），即催化异亮氨酸和缬氨酸合成途径的第一步。Falco和Dumas的研究指出，在酵母中SM的攻击位点也是ALS和AHAS^[18]。对SM抗性突变株的遗传分析表明，突变基因SMR1是编码AHAS酶基因ILV2的等位基因，即SMR1与ILV2位于同一位点上。这样突变基因SMR1也许会产生活力较低的乙酰乳酸合成酶（ALS），因此，我们可以通过选育SM抗性突变株的办法来选育低双乙酰的啤酒酵母酿造菌株，前人研究证明是可行的^[18]。

2.1.4 采用基因重组技术控制酵母双乙酰的产生

(1) 构建 α -乙酰乳酸脱羧酶（ALDC）基因的啤酒酵母工程株

α -乙酰乳酸脱羧酶能够催化 α -乙酰乳酸转化为乙偶姻，从而避免其氧化成为双乙酰，显著缩短了啤酒的成熟时间。很多细菌都含有这种酶，但酵母不含有 α -乙酰乳酸脱羧酶。秦玉静等人^[19]，构建了含 α -乙酰乳酸脱羧酶（ALDC）基因的地衣芽孢杆菌（*Bacillus licheniformis*）基因文库，利用大肠杆菌和酵母菌穿梭质粒为载体将 α -乙酰乳酸脱羧酶基因引入啤酒酵母中，得到的重组酵母菌株具有降解啤酒发酵中生成的 α -乙酰乳酸，从而减少了双乙酰的含量。

张沛等人^[20]，利用基因工程手段将食品级醋化醋杆菌（*Acetobacter aceti*）

的 α -乙酰乳酸脱羧酶基因引入啤酒酵母中，获得一株性能优良的啤酒酵母工程菌。工程菌与出发菌在生理、生化、发酵特性等方面无差异，但发酵液中双乙酰的峰值及还原时间较出发菌降低1/3左右。芬兰国立技术研究中心生物技术与日本麒麟啤酒公司成功合作，利用基因工程技术将产气杆菌和肠杆菌中的 α -乙酰乳酸脱羧酶基因克隆到啤酒酵母，获得了具有高度表达能力的啤酒酵母工程菌，在50 L发酵扩大实验中，发酵时间缩短二分之一，风味物质及泡沫均无影响，发酵性能连续五代稳定。

(2) 编码双乙酰代谢相关酶基因的控制

目前，对双乙酰形成的途径、中间酶类及编码基因已比较清楚^[21,22]，此过程涉及(的)5个酶基因已全部克隆出来，命名为ILV1、ILV2、ILV3、ILV4和ILV5，它们分别编码苏氨酸脱氨酶、乙酰羧酸合成酶、二羧基酸脱水酶、转氨酶和乙酰羟酸还原异构酶。通过控制这些酶基因的表达，可以调节双乙酰的生成量。调节双乙酰生成量可以从以下三个方面进行^[23]：(1)将乙酰乳酸脱羧酶克隆到酵母染色体中，将乙酰乳酸在其分泌到细胞外以前就降解掉；(2)改变编码乙酰乳酸合成酶的基因ILV2，产生低效率酶，限制乙酰乳酸的生成量；(3)增加乙酰羟酸还原异构酶基因的拷贝数，使此酶产量较多，将乙酰乳酸转化成缬氨酸。芬兰国立技术研究所，嘉士伯公司实验室，比利时实验室等研究机构已分别从上述三方面入手取得了成功。

2.2 添加 α -乙酰乳酸脱羧酶降低啤酒中双乙酰含量

众所周知，在酵母体内双乙酰可以通过酶的作用而被还原，但在双乙酰形成和消除反应中，前体物质的氧化脱羧反应速率要比双乙酰还原速度慢十倍，这样 α -乙酰乳酸的分解成了双乙酰去除速率的限制步骤。 α -乙酰乳酸脱羧酶可以直接催化 α -乙酰乳酸脱羧生成乙偶姻，没有形成双乙酰的过程(图3)，从而降低啤酒中双乙酰的含量，但啤酒酵母本身不含此酶。直接往啤酒中添加食品级 α -乙酰乳酸脱羧酶被认为是降低啤酒中双乙酰的简捷有效的方法之一。发酵开始时将 α -乙酰乳酸脱羧酶加入到冷的麦汁中，主发酵后，双乙酰含量可降到口味阈值以下，可大大缩短贮酒时间。锥形罐发酵实验结果表明，发酵周期可缩短近一半，提高设备利用率40%，经济效益可大幅度地提高。

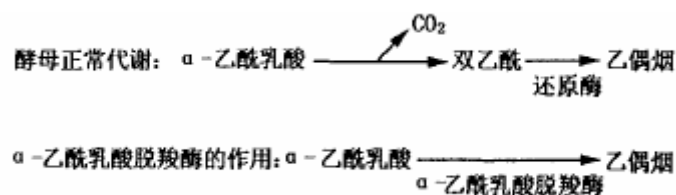


图3 α -乙酰乳酸脱羧酶的作用^[24]

Fig 3 The reaction of α -acetyl lactate decarboxylase

2.3 发酵过程的工艺控制^[25]

2.3.1 提高发酵温度

α -乙酰乳酸的非酶解和双乙酰的酶还原作用都与温度有关，温度愈高，反应愈快。

2.3.2 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0.1MPa升至0.14MPa，这样既可避免酵母过早沉降，又可以促进双乙酰渗入细胞内，利用酵母细胞加速双乙酰的还原。

2.3.3 防止杂菌的污染^[26]

乳酸杆菌、四联球菌、发酵单胞菌等都可产生双乙酰。五十年代曾一度认为是由于杂菌的污染才引起双乙酰的超标。生产实践表明，大肠菌群达到960个/mL以上，或厌氧菌达到103个/mL，都会遇到严重的双乙酰问题。主要表现为双乙酰峰值高，还原速度慢，持续不下降。轻者双乙酰虽能下降到正常水平，但杀菌后回升幅度大。因此应加强卫生管理。

2.3.4 酵母细胞数量的控制

发酵后期欠酒时，后发酵液中酵母细胞密度在 2.0×10^7 个/mL左右，以避免酵母过早沉降。

2.3.5 二氧化碳洗涤

利用二氧化碳洗涤发酵液，可以促进凝聚酵母细胞重新悬浮，促进发酵液对流，有利于排除双乙酰，同时还可以将一部分挥发物带出。

2.3.6 降低接种麦汁的pH值

将接种麦汁的pH值降低至4.4左右，并不影响发酵速度，但在低pH值下，一方面 α -乙酰乳酸的生成量减少，另一方面 α -乙酰乳酸分解为双乙酰的速度加快

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