

# Cu<sup>2+</sup>对酿酒酵母酒精发酵特性的影响

贾博, 刘灵伶, 刘兴艳, 战吉成, 黄卫东

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘要:** 本文利用两株酿酒酵母 Freddo (F 菌)、BH8 (B 菌) 和模拟葡萄汁发酵体系, 研究了不同浓度 Cu<sup>2+</sup>对酿酒酵母生长和发酵特性的影响。结果表明, Cu<sup>2+</sup>抑制发酵前期酵母生长、酒精发酵的程度和延长酒精发酵时间与 Cu<sup>2+</sup>浓度正相关, 当 Cu<sup>2+</sup>浓度达到 0.2 mM 时, 酵母酒精发酵出现提前终止。发酵结束时, B 菌对照组葡萄糖和果糖的残留量为 2.51 g/L、10.80 g/L, Cu<sup>2+</sup> 0.1 mM 处理组葡萄糖和果糖残留量分别为 0.43 g/L、3.43 g/L, Cu<sup>2+</sup> 0.1 mM 处理促进了 B 菌发酵后期对糖的利用; F 菌 Cu<sup>2+</sup>处理组与对照组残糖量之间不存在显著性差异。B 菌 Cu<sup>2+</sup> 0.1 mM 处理组酒精总产量为 10.80%, 显著高于对照组的 10.27% 与 Cu<sup>2+</sup> 0.05 mM 处理组的 10.37%。B 菌 Cu<sup>2+</sup> 0.05 mM 处理组的甘油产量为 6.66 g/L, 显著高于对照组的 6.37 g/L 与 Cu<sup>2+</sup> 0.1 mM 处理组的 6.29 g/L; F 菌 Cu<sup>2+</sup>处理组与对照相比, 酒精和甘油总产量之间不存在显著性差异, 可见, 不同株酵母对 Cu<sup>2+</sup>逆境的适应性不同的。

**关键词:** 酿酒酵母; 二价铜离子; 发酵

文章编号: 1673-9078(2015)1-32-36

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.1.007

## Effect of Cu<sup>2+</sup> on Fermentation Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae*

JIA Bo, LIU Ling-ling, LIU Xing-yan, ZHAN Ji-cheng, HUANG Wei-dong

(College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083 China)

**Abstract:** The aim of this study was to understand the effect of Cu<sup>2+</sup> on the growth and fermentation characteristics of *Saccharomyces cerevisiae*. An industrial *S. cerevisiae* strain Freddo (F) and a new *S. cerevisiae* strain BH8 (B) isolated in our lab were used, and a simulated grape juice fermentation system was conducted. The results showed that Cu<sup>2+</sup> inhibited the early growth of *S. cerevisiae*, and the extent and time of alcoholic fermentation positively correlated with Cu<sup>2+</sup> concentration. When fermentation with 0.2 mM Cu<sup>2+</sup>, the process terminated earlier. The Residual glucose and fructose concentrations in the control (with no Cu<sup>2+</sup>) for strain B were 2.51 g/L and 10.80 g/L, respectively. On the other hand, at 0.1 mM Cu<sup>2+</sup>, these values were 0.43 g/L and 3.43 g/L, respectively, for Cu<sup>2+</sup>-treated strain B. This indicated that 0.1 mM Cu<sup>2+</sup> promoted sugar utilization in late fermentation by strain B. There was no significant difference in residual sugar concentration between control and Cu<sup>2+</sup>-treated groups for strain F. The ethanol yield of 0.1 mM Cu<sup>2+</sup>-treated strain B was 10.80%, which was significantly higher than that of the control (10.27%) and 0.05 mM Cu<sup>2+</sup>-treated (10.37%) strain B groups. The glycerol yield of 0.05 mM Cu<sup>2+</sup>-treated strain B was 6.66 g/L, which was significantly higher than that of the control (6.37 g/L) and 0.1 mM Cu<sup>2+</sup>-treated (6.29 g/L) strain B groups. In comparison, Cu<sup>2+</sup>-treated strain F and control groups showed no significant difference in ethanol and glycerol yield. Therefore, the adaptability of different yeast strains to Cu<sup>2+</sup> stress was different.

**Key words:** *Saccharomyces cerevisiae*; Cu<sup>2+</sup>; fermentation

铜普遍存在于动物、植物和微生物体内, 是维持生物体正常生长与代谢的重要微量元素, 它参与多种生命活动, 是许多酶和蛋白所必需的组分。许多参与氧化还原反应的蛋白质活性位点上的铜, 是有效的电

收稿日期: 2014-06-13

基金项目: 国家十二五科技支撑计划 (2012BAD31B07); 国家自然科学基金 (31471835); 北京市科技计划 (D13110000513003)

作者简介: 贾博 (1981-), 男, 博士, 研究方向: 葡萄酒微生物

通讯作者: 黄卫东 (1961-), 男, 教授, 研究方向: 酵母次生代谢生理和葡萄酒次生代谢与调控

子供体与受体, 同时, 许多具有氧化功能的酶, 需要有铜存在时才有活性<sup>[1-2]</sup>。当铜超过生物体需求量时, 它就成了氧化还原反应的活泼因子, 参与 Fenton 反应, 会产生氧化力极强的 OH, OH 会引起细胞膜脂质的过氧化, 蛋白质的氧化以及 DNA 和 RNA 分子的解链, 最终导致细胞的死亡<sup>[3]</sup>。

铜是铜制剂农药主要的有效组分, 铜制剂农药在全球应用广泛, 如我们熟知的波尔多液 (CuSO<sub>4</sub>·xCu(OH)<sub>2</sub>·yCa(OH)<sub>2</sub>·zH<sub>2</sub>O), 对葡萄霜霉, 白粉等真菌病害有较好的防治效果<sup>[4]</sup>, 但自问世以来,

一直被错误地认为是很安全的药剂,经常被不合理使用。早在19世纪末期,某些地区葡萄园中的土壤就富集了大量的铜,主要以二价阳离子形式存在<sup>[5]</sup>。欧盟在法规(EC No.1410/2003)中,限定葡萄和葡萄酒中的铜含量分别不得超过20 mg/L和1 mg/L<sup>[6]</sup>。有文献报道,铜制剂农药施用方法不当,会造成葡萄果实的铜残留过大,从而直接导致葡萄发酵液中的铜含量超标<sup>[7]</sup>。当发酵液中的 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度超过一定限度时,会影响酿酒酵母的正常生长和酒精发酵<sup>[8]</sup>。但是,关于 $\text{Cu}^{2+}$ 影响酿酒酵母酒精发酵的研究报道比较少。

本文以模拟葡萄汁(Model synthetic medium)<sup>[9]</sup>为发酵体系,该体系模拟天然葡萄汁的成分,同时排除了天然葡萄汁中的原花色素,花色苷等多酚类大分子活性物质及某些不可控成分的干扰,更真实的反映单一因素 $\text{Cu}^{2+}$ 对发酵中酿酒酵母的生理活性和酒精发酵特性的影响。本研究采用两株酿酒酵母(Freddo, BH8)和模拟葡萄汁(MSM)发酵体系,通过外源添加不同浓度的 $\text{Cu}^{2+}$ ,研究了 $\text{Cu}^{2+}$ 对酵母细胞生长、 $\text{CO}_2$ 生成量、糖利用、酒精发酵产物的影响。最终,为探讨葡萄酒酿造过程中的铜问题提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 试验菌株

*Saccharomyces cerevisiae* Freddo 是一株商业葡萄酒酿酒酵母,购于 Erbslöh (Germany) 公司;*Saccharomyces cerevisiae* BH8, 分离自本土选育红葡萄酒酿造品种“北红”葡萄汁的自然发酵液,为本实验室分离菌种。该菌种经中科院微生物研究所鉴定为酿酒酵母。

#### 1.1.2 培养基

YPD 培养基(种子培养基)(g/L): 酵母浸粉 10, 蛋白胨 20, 葡萄糖 20。

MSM培养基(模拟葡萄汁)可以模拟标准葡萄汁的成分,该培养基适于研究葡萄酒酵母的酿造特性,并具有良好的重现性。配制参考Marullo等(2004)的方法,模拟葡萄汁的成分为(g/L): 葡萄糖(100), 果糖(100), 酒石酸(3), 柠檬酸(0.3), L-苹果酸(0.3),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (2),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.2)。氮源(190 mg total N/L):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.3 g)和 Asn(0.6g)。无机盐(mg/L):  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (4),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (4),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1), KI(1),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.4),  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1),  $\text{H}_3\text{BO}_3$ (1)。维生素(mg/L): 肌醇(300), 生物素(0.04), 硫酸铵(1), 吡哆醇(1), 烟酸(1), 泛酸(1), 脂肪酸(mg/L):

棕榈酸(1), 棕榈烯酸(0.2), 硬脂酸(3), 油酸(0.5), 亚油酸(0.5), 亚麻酸(0.2)。pH 值调整为3.3。

#### 1.1.3 试剂

葡萄糖、果糖、甘油、乙醇标样购于美国Sigma公司,其他试剂均为分析纯级别。

#### 1.1.4 仪器

恒温培养箱、超净工作台、紫外分光光度仪、HANNA pH计、Shinadzauy220万分之一天平、飞鸽牌冷冻离心机、超低温冰箱、Waters 高效液相色谱

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 菌种培养和发酵条件

接种1环斜面上保藏的菌种到60 mL种子培养基中。28 °C摇床培养12 h至对数期( $\text{OD}_{600}$ 约为1.5),转速为120 r/min。接种到含有不同浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 的MSM培养基中,接种量为1%,初始OD值在0.04左右。称重瓶发酵栓中加入6~8 mL浓硫酸,取样瓶(500 mL)发酵栓中加入6 mL无菌水,每瓶的发酵液体积为400 mL,28 °C下静置培养。

### 1.2.2 $\text{Cu}^{2+}$ 处理浓度的确定

$\text{Cu}^{2+}$ 浓度设置范围参考Mrvic等<sup>[8]</sup>发酵试验的设置。配制 $\text{CuSO}_4$ 母液0.1 M/L,在模拟葡萄汁培养基中添加不同量的 $\text{CuSO}_4$ 母液,使 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度达到0、0.01、0.05、0.1、0.15和0.2 mM。筛选两个铜逆境浓度,进行酒精发酵试验。

### 1.2.3 酿酒酵母活菌数的测定

发酵过程中,各处理按天数取样1 mL,梯度稀释后,YPD平板涂布,28 °C培养72 h,菌落计数。

### 1.2.4 $\text{CO}_2$ 失重的测定

接种前、接种后及发酵过程中,用电子天平称重(精确到0.01 g)发酵瓶,称前先摇晃瓶子,以赶除二氧化碳。当发酵瓶不在减重时,即认为发酵结束(Brandolini et al. 2002)。

### 1.2.5 发酵产物测定

发酵液取样在超净工作台中进行。以时间点(0 d、2 d、4 d、6 d...26 d),对各处理的模拟葡萄汁发酵液一次性针管取样5 mL,离心得上清液进行检测。

参照Moreira等<sup>[10]</sup>的方法,酵母代谢产物采用高效液相色谱法(Waters-2695),色谱条件: Bio-Rad HPX-87H 色谱柱(300 mm×7.8 mm),示差检测器(RID, waters-2414)。柱温55 °C,流速0.5 mL/min,等度洗脱,进样量10 μL,以峰面积外标法定量。

流动相: 0.005 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; 流动相经溶剂过滤器过滤,滤膜为0.22 μm水相膜(四氟乙烯膜)。

### 1.2.6 数据分析

试验重复三次, 数据统计分析利用 SPSS 软件 ANOVA 和 Duncan 分析方法, 0.05 显著水平。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度对酵母细胞 $\text{CO}_2$ 释放量的影响

模拟葡萄汁发酵过程中,  $\text{Cu}^{2+}$  作用下两株菌的  $\text{CO}_2$  释放情况如图 1 所示。

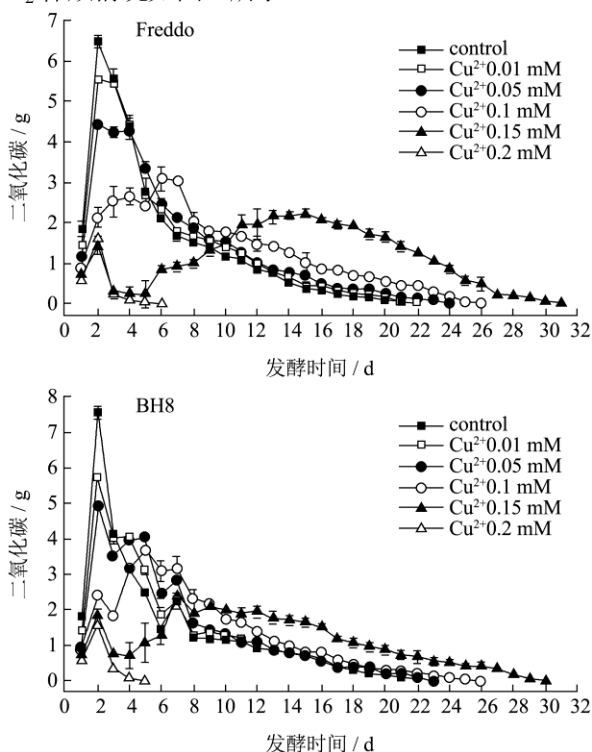


图 1 不同浓度  $\text{Cu}^{2+}$  对酵母发酵  $\text{CO}_2$  释放量的影响

Fig.1 Effect of different concentrations of  $\text{Cu}^{2+}$  on the amount of carbon dioxide produced during fermentation by the two wine yeasts

从图 1 可以看出, 发酵过程中,  $\text{Cu}^{2+}$  影响 B、F 两菌株  $\text{CO}_2$  释放的规律相同。不同浓度  $\text{Cu}^{2+}$  不同程度的影响了酿酒酵母  $\text{CO}_2$  释放的特性。对照单日最大  $\text{CO}_2$  释放量出现在第 2 d;  $\text{Cu}^{2+}$  0.01、0.05 mM 处理单日最大  $\text{CO}_2$  释放量也出现在第 2 d, 但是释放量低于对照;  $\text{Cu}^{2+}$  0.1、0.15 mM 处理单日最大  $\text{CO}_2$  释放量显著降低, 同时出现时间往后推移, 浓度越大出现时间越延后;  $\text{Cu}^{2+}$  0.2 mM 处理单日最大  $\text{CO}_2$  释放量与对照相同也出现在第 2 d, 但其在第 5 d 即发酵停止。从发酵时间来看,  $\text{Cu}^{2+}$  0.01、0.05 mM 处理的发酵时间与对照相同,  $\text{Cu}^{2+}$  0.1 mM 处理发酵时间延迟了 4 d, 在  $\text{Cu}^{2+}$  浓度达到 0.15 mM 时, 酵母的酒精发酵出现了 3d 的迟滞期, 发酵时间延迟了 6~7 d。  $\text{Cu}^{2+}$  0.2 mM 处

理造成了酵母酒精发酵的提前终止, 说明浓度达到 0.2 mM 时,  $\text{Cu}^{2+}$  对酿酒酵母产生了致死的毒害。

根据 2.1 的结果, 选取 0.05, 0.1 mM  $\text{Cu}^{2+}$  浓度对 B, F 酿酒酵母酒精发酵做进一步的研究。

如表 1 所示, F 菌对照组的  $\text{CO}_2$  积累量比 B 菌对照组多, 由于 B 菌为本实验室筛选的野生菌株, 发酵力比商业菌株 F 要表现的弱一些。B 菌  $\text{Cu}^{2+}$  0.05, 0.1 mM 处理组的  $\text{CO}_2$  积累量显著高于对照组。F 菌  $\text{Cu}^{2+}$  0.05, 0.1 mM 处理组的  $\text{CO}_2$  积累量与对照组没有显著性差异。可见,  $\text{Cu}^{2+}$  对酿酒酵母酒精发酵的  $\text{CO}_2$  积累量的影响在不同酵母菌株之间存在差异性。

表 1 二氧化碳的积累量 (g/400 mL, n=3)

Table 1 Cumulative $\text{CO}_2$ mass (g/400 mL, n=3)		
	BH8	Freddo
对照	31.75±0.17 <sup>a</sup>	33.44±0.39 <sup>a</sup>
0.05 mM	33.03±0.37 <sup>b</sup>	33.84±0.53 <sup>a</sup>
0.1 mM	32.61±0.44 <sup>b</sup>	34.34±0.41 <sup>a</sup>

注: 结果表示为三次测定的平均值±标准差。不同的小写字母表示在 0.05 显著水平上差异显著。

### 2.2 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度对酿酒酵母生物量的影响

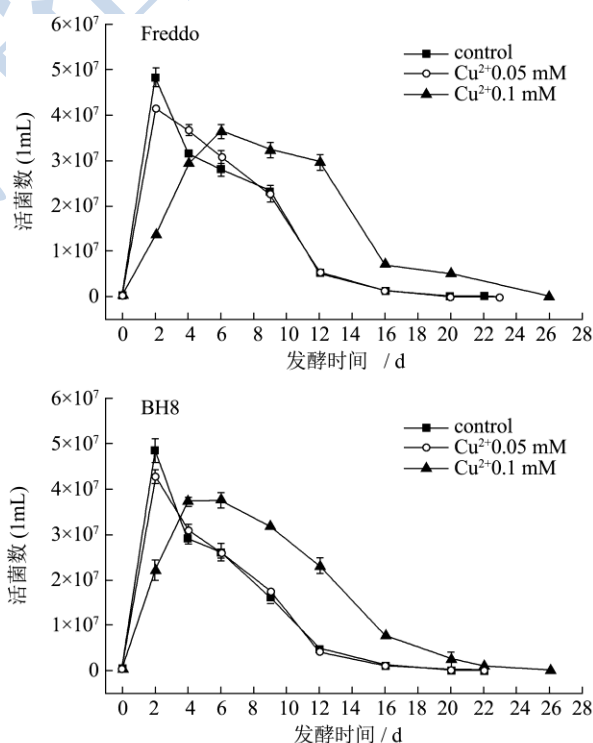


图 2 不同浓度  $\text{Cu}^{2+}$  对酿酒酵母生物量的影响

Fig.2 Effect of different concentrations of  $\text{Cu}^{2+}$  on the biomass of the two wine yeasts

模拟葡萄汁发酵过程中,  $\text{Cu}^{2+}$  对酿酒酵母生物量的影响, 如图 2 所示。B、F 两菌株表现规律相似。对照组单日最大生物量出现在第 2 d,  $\text{Cu}^{2+}$  0.05 mM 处理

组与对照组规律相同,但单日最大生物量比对照组略低。 $\text{Cu}^{2+}$  0.1 mM 处理下,发酵前期,两菌株细胞生长活性受到强烈抑制,F菌受  $\text{Cu}^{2+}$  抑制更显著。 $\text{Cu}^{2+}$  0.1 mM 处理单日最大生物量与对照相比显著降低,并且出现的时间比对照组延迟 2~3 d;在发酵中后期, $\text{Cu}^{2+}$  0.1 mM 处理的酵母生物量显著高于对照与  $\text{Cu}^{2+}$  0.05 mM 处理组。原因在于对照和  $\text{Cu}^{2+}$  0.05 mM 处理组,前期发酵剧烈,残糖含量显著降低,酒精生成量显著上升,在酒精和饥饿逆境的共同作用下,酵母细胞开始大量的死亡,0.1 mM  $\text{Cu}^{2+}$  发酵前期抑制了酵母的生长,酒精发酵速率缓慢,酒精积累酵母,残糖含量较高,同时酵母在高  $\text{Cu}^{2+}$  的环境的刺激下,可能会产生抗性,所以后期存活率较高,可以继续发酵。

### 2.3 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度对酵母细胞糖利用的影响

如图 3 所示,在发酵前中期,F菌  $\text{Cu}^{2+}$  处理组葡萄糖和果糖的减少量都比对照组少,直到发酵后期, $\text{Cu}^{2+}$  处理组残糖量才与对照组趋于一致;B菌  $\text{Cu}^{2+}$  0.05 mM 处理组结果与 F 菌相同,而 B 菌  $\text{Cu}^{2+}$  0.1 mM 处理在发酵前期抑制酵母细胞对糖的利用,在发酵中后期,促进了 B 菌对糖的利用,特别是果糖的利用。从两菌株的结果来看, $\text{Cu}^{2+}$  在发酵前期降低了酿酒酵母的糖利用率。

表2 发酵结束残糖量

Table 2 Residual sugar content at the end of fermentation

		葡萄糖/(g/L)	果糖/(g/L)
BH8	对照	2.51±0.15 <sup>a</sup>	10.80±0.70 <sup>b</sup>
	0.05 mM	2.47±0.11 <sup>a</sup>	9.62±0.53 <sup>b</sup>
	0.1 mM	0.43±0.10 <sup>b</sup>	3.43±0.45 <sup>c</sup>
Freddo	对照	0.84±0.12 <sup>a</sup>	4.78±0.41 <sup>a</sup>
	0.05 mM	0.59±0.03 <sup>a</sup>	3.54±0.73 <sup>a</sup>
	0.1 mM	0.63±0.55 <sup>a</sup>	4.05±1.82 <sup>a</sup>

注:结果表示为三次测定的平均值±标准差。不同的小写字母表示在0.05显著水平上差异显著。

如表 2 所示,从发酵结束的残糖量来看,酵母对葡萄糖的利用率显著高于果糖。两菌株对照组残糖量可以看出,F菌对糖的利用率比 B 菌高,特别是对果糖的利用,B菌是野生菌,在发酵力上没有经过驯化,相比商业菌株来说要差。发酵结束时 B 菌  $\text{Cu}^{2+}$  0.1 mM 处理组残糖量显著低于对照组,可见, $\text{Cu}^{2+}$  0.1 mM 处理促进了 B 菌对糖的代谢,特别是对果糖的代谢。原因可能在于 B 菌本身发酵力弱,残糖高,高  $\text{Cu}^{2+}$  处理发酵后期  $\text{Cu}^{2+}$  浓度降低,对酵母细胞的抑制效果降低,在发酵延长阶段, $\text{Cu}^{2+}$  反而成为一个刺激因子,促进 B 菌对残糖的利用。而 F 菌的糖代谢比较完全,所以

从残糖量来看, $\text{Cu}^{2+}$  对 F 菌没有影响, $\text{Cu}^{2+}$  主要是影响了 F 菌的发酵速率和发酵时间。

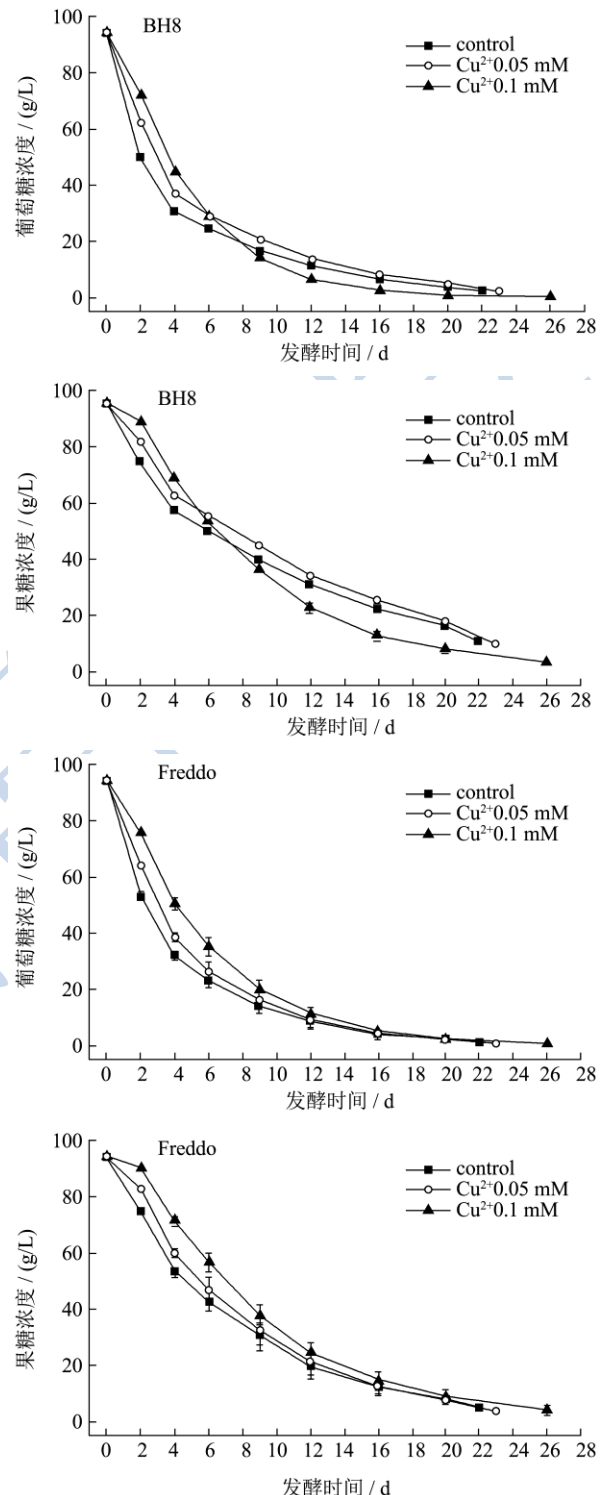


图3 不同浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 对酿酒酵母葡萄糖和果糖利用的影响

Fig.3 Effect of different concentrations of  $\text{Cu}^{2+}$  on the utilization of glucose and fructose by the two wine yeasts

### 2.4 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度对酿酒酵母乙醇和甘油生成量的影响

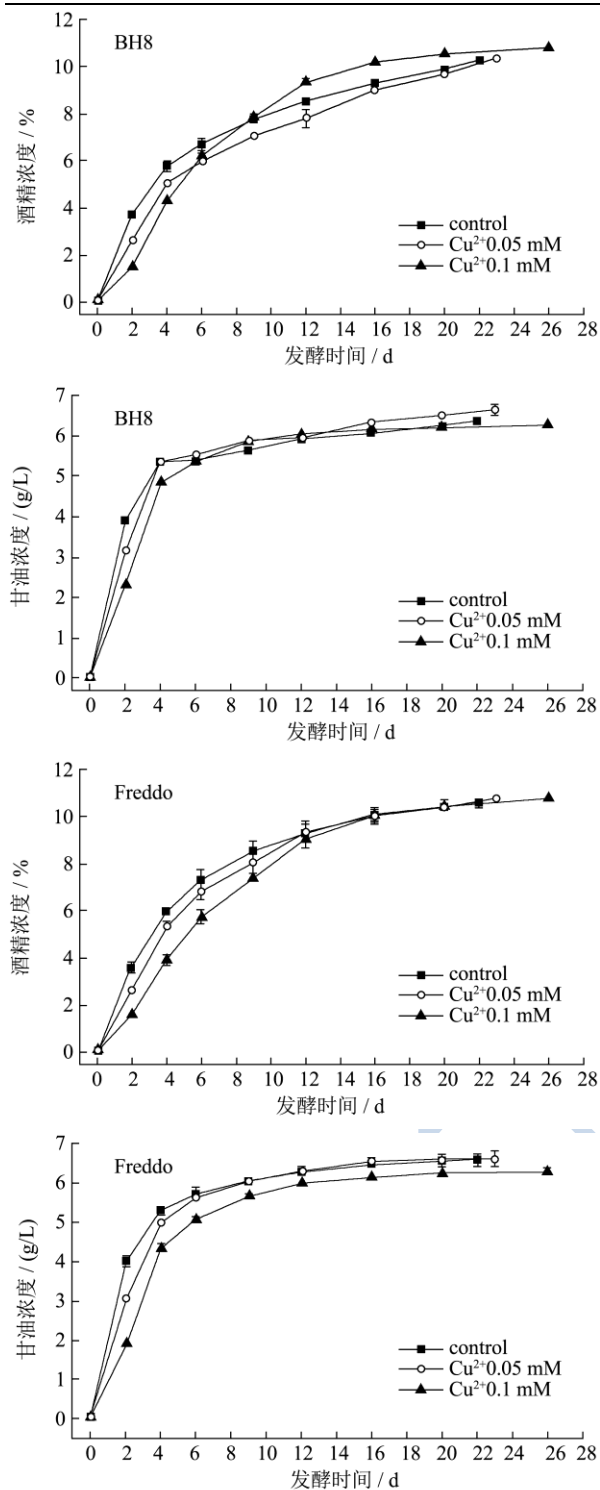


图4 不同浓度Cu<sup>2+</sup>对酿酒酵母乙醇和甘油生成量的影响

Fig4 Effect of different concentrations of Cu<sup>2+</sup> on the production of ethanol and glycerol by the two wine yeasts

如图4所示,在发酵的前中期,F菌Cu<sup>2+</sup>处理组乙醇生成量显著小于对照组,直到发酵后期,Cu<sup>2+</sup>处理组乙醇生成量才与对照组趋于一致;B菌Cu<sup>2+</sup>0.05 mM处理组结果与F菌相同,而B菌Cu<sup>2+</sup>0.1 mM处

理组,发酵前期乙醇生成量比对照组少,发酵中后期乙醇生成量比对照与Cu<sup>2+</sup>0.05 mM组多。发酵前期Cu<sup>2+</sup>抑制了B菌甘油的生成,浓度越大抑制效果越明显,发酵中后期,Cu<sup>2+</sup>0.1 mM处理的甘油总产量与对照趋于一致,而Cu<sup>2+</sup>0.05 mM处理在发酵后期的甘油产量比对照高。F菌Cu<sup>2+</sup>0.05 mM处理发酵前期甘油合成受抑制,后期产量与对照趋于一致,Cu<sup>2+</sup>0.1 mM处理组的甘油生成量在整个发酵过程中,始终显著性低于对照组。

表3 酒精和甘油的积累量(n=3)

Table 3 Cumulative ethanol and glycerol yield (n=3)

		酒精(V/V)/%	甘油/(g/L)
BH8	对照	10.27±0.09 <sup>a</sup>	6.37±0.05 <sup>b</sup>
	0.05 mM	10.37±0.14 <sup>a</sup>	6.66±0.13 <sup>a</sup>
	0.1 mM	10.80±0.12 <sup>b</sup>	6.29±0.08 <sup>b</sup>
Freddo	对照	10.59±0.16 <sup>a</sup>	6.58±0.16 <sup>a</sup>
	0.05 mM	10.81±0.09 <sup>a</sup>	6.62±0.19 <sup>a</sup>
	0.1 mM	10.80±0.15 <sup>a</sup>	6.29±0.09 <sup>a</sup>

注:结果表示为三次测定的平均值±标准差。不同的小写字母表示在0.05显著水平上差异显著。

表3所示,B菌Cu<sup>2+</sup>0.1 mM处理组酒精总产量显著高于对照与Cu<sup>2+</sup>0.05 mM处理组,对照与Cu<sup>2+</sup>0.05 mM处理组之间不存在显著性差异,而B菌Cu<sup>2+</sup>0.05 mM处理组甘油总量显著高于对照与Cu<sup>2+</sup>0.1 mM处理组,对照与Cu<sup>2+</sup>0.1 mM处理组之间不存在显著性差异。F菌Cu<sup>2+</sup>处理组与对照组酒精和甘油总产量之间都不存在显著性差异。

### 3 结论

模拟葡萄汁,排除了天然葡萄汁中某些不可控成分的干扰,该体系适用于某类物质(金属离子、花色苷等)对酿酒酵母发酵影响的研究。本文结果表明,随着发酵液中Cu<sup>2+</sup>浓度的升高,会出现抑制酵母生长,影响酵母糖代谢,改变酵母发酵特性,延长发酵时间的结果。Cu<sup>2+</sup>的抑制效果和延长酒精发酵的时间与Cu<sup>2+</sup>浓度正相关。当Cu<sup>2+</sup>浓度过高时,酵母的酒精发酵会出现停滞现象,严重的会造成发酵的提前终止。在不造成发酵提前终止的Cu<sup>2+</sup>浓度作用下,发酵产物酒精和甘油的生成规律及最终产量在不同的菌株之间存在一定的差异性。高浓度Cu<sup>2+</sup>对酒精发酵的影响主要在于抑制酵母生物量,是否同时抑制发酵途径中关键酶活性及其基因表达,有待于进一步的研究。

## 参考文献

- [1] Arredondo M, Nunez M T. Iron and copper metabolism. [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2005, 26: 313-327
- [2] Tapiero H, Townsend D M, Tew K D. Trace elements in human physiology and pathology: copper. [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2003, 57: 386-398
- [3] Gaetke L M, Chow C K. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. [J]. *Toxicology*, 2003, 189: 147-163
- [4] Boubals D. Copper in the control of grapes in France. [J]. *Vitevitico*, 2001, 28(5): 45-47
- [5] Calisir F, Akman S. Survey of lead and copper in Turkish raisins. [J]. *Food Additives & Contaminants*, 2007, 9(24): 960-968
- [6] Garcá-esparza M A, Capri E, Pirzadeh P, et al. Copper content of grape and wine from Italian farms. [J]. *Food Additives and Contaminants*, 2006, (23)3: 274-280
- [7] La Pera L, Dugo G, Rando R, et al. Statistical study of the influence of fungicide treatments (mancozeb, zoxamide and copper oxychloride) on heavy metal concentrations in Sicilian red wine. [J]. *Food Additives & Contaminants*, 2008, 3(25): 302-313
- [8] Mrcic J, Stanzer D, Stehlik-Tomas, Skevin D, et al. Optimization of bioprocess for production of copper-enriched biomass of industrially important microorganism *Saccharomyces cerevisiae*. [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2007, 103(4): 331-337
- [9] Marullo P, Bely M, Masneuf Pomarede I, et al. Inheritable nature of enological quantitative traits is demonstrated by meiotic segregation of industrial wine yeast strains. [J]. *FEMS Yeast Research*, 2004, 4: 711-719
- [10] Moreira N, Mendes F, Hogg T, et al. Alcohols, esters and heavy sulphur compounds production by pure and mixed cultures of apiculate wine yeasts. [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 103: 285-294