

# 关于啤酒酵母产生苯乙醇的研究

黄亚东<sup>1</sup>,印伯星<sup>2</sup>

(1.江苏食品职业技术学院生物工程系,江苏 淮安 223001 2.扬州大学食品学院,江苏 扬州 225000)

**摘要:** 苯乙醇具有玫瑰风味,是清酒和葡萄酒等酒精饮料中的重要风味化合物。利用啤酒酵母生产风味物质的原理即为利用酶或微生物将前体物苯丙氨酸转化为食品风味苯乙醇。在啤酒酵母中芳香族氨基酸生物合成主要受DAHP合成酶、分支酸合成酶、分支酸变位酶、邻氨基苯甲酸合成酶、预苯酸脱水酶和预苯酸脱氢酶的调节;在啤酒酵母细胞中L-苯丙氨酸形成苯乙醇的途径中,对于苯丙氨酸 $\alpha$ -酮酸脱氢酶起主要作用。(孙悟)

**关键词:** 啤酒酵母; 苯乙醇; 研究

中图分类号: TS261.1; TS262.5 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2003)05-0062-02

## Study on Phenethyl alcohol Derived from Beer Yeast

HUANG Ya-dong<sup>1</sup>, YIN Bo-xing<sup>2</sup>

(1. Bioengineering Department of Jiangsu Food Occupational Techniques College, Huai'an, Jiangsu 223001;

2. Food College of Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu 225000, China)

**Abstract:** Phenethyl alcohol has rose aroma and it is the important flavoring compound for alcoholic beverage like sake and grape wine etc. The theory that beer yeast could produce flavoring materials (enzyme or microbes to transform phenylalanine into phenethyl alcohol) was applied in practice. The biosynthesis of amino acids in beer yeast is mainly adjusted by DAHP synthetase, chorismate synthetase, chorismate mutase, anthranilate synthetase, prephenic acid dehydrase and prephenic acid dehydrogenase.  $\alpha$ -ketone acid dehydrogenase exerted the main function for phenylalanine in the transformation of intracellular L-phenylalanine into phenethyl alcohol. (Iran. by YUE Yang)

**Key words:** beer yeast; phenethyl alcohol; study

随着食品生物技术的迅猛发展、人民生活水平的不断提高及食品添加剂应用的普及,特别是随着我国加入世界贸易组织,人们越来越重视食品的安全性,追求有机食品、生态食品、绿色食品已成为一种时尚。食品生产技术人员也越来越倾向于使用天然食品添加剂。

香味物质对多种酒精饮料的品质是十分重要的。许多香味物质都是由酵母在发酵过程中形成的。实践证明,啤酒酵母不仅决定着酒精的产生,而且在风味物质的形成过程中也起着非常重要的作用。杂醇油是酒精(白酒)生产中形成的产物。在酒精饮料中,高级醇(杂醇油)是含量最多的挥发性风味物质。高级醇包括丙醇、2-甲基丙醇(异丁醇)、3-(1-)-2-甲基丁醇(光学活性戊醇)、3-甲基丁醇(异戊醇)和苯乙醇。研究发现,各种酵母菌都能产生杂醇油。苯乙醇是杂醇油的重要组成部分。苯乙醇(Phenethyl Alcohol)为无色透明液体,具有玫瑰型香气,比重 $d_{25}^{25}$ 1.0180~1.0200,折射率 $n_D^{20}$ 1.5300~1.5330,含醇量 $\geq 99\%$ (以苯乙醇计),25℃时全溶于50倍容量的蒸馏水中。其风味特征类似玫瑰蜂蜜,在食品、发酵、酿酒工业中具有广阔的应用前景。苯乙醇是清酒和葡萄酒等酒精饮料的重要风味化合物。例如,在每1L清酒中含有20~70mg苯乙醇。

### 1 啤酒酵母产生芳香化合物的机理

利用啤酒酵母产生风味物质,即利用酶或微生物将天然存在的前体物质转化成食品生产所需要的风味物质。苯乙醇是由酵母菌在发酵过程中通过转化发酵液中的苯丙氨酸产生的,或者从头

开始合成的。

虽然有时也可选用其他一些酵母,但是由于啤酒酵母具有生物催化的通用性,通常被认为是安全的(Generally Regarded As Safe),并且容易生产,所以一般常用啤酒酵母作为生产这些风味物质的微生物。利用啤酒酵母生产苯乙醇的前体物质是苯丙氨酸。

表1 由啤酒酵母产生的几种芳香化合物

风味物质	前体物	风味特征
乙醛	乙醇	辛辣,高度稀释后类似咖啡/啤酒
$\gamma$ -癸内酯	源自蓖麻油的蓖麻油酸 亚油酸	葡萄味,桃味 类似甜椰子-桃奶
$\delta$ -癸内酯	11-羟基棕榈酸	
苯乙醇	Massoi内酯 苯丙氨酸	类似玫瑰蜂蜜

### 2 啤酒酵母中芳香族氨基酸生物合成的调节

在实际生产中,既可通过筛选或诱变的酵母株来增加这些物质的生成,也可通过控制发酵罐中酵母的培养工艺条件来产生。通过控制发酵工艺条件可产生苯乙醇等化合物,发酵结束后将其加以分离,作为天然香味组分与其他天然组分配合作为天然香料。

苯乙醇是苯丙氨酸前体物质苯丙酮酸在脱羧过程中合成的。图1表示了芳香族氨基酸生物合成的调节途径。

对于啤酒酵母,芳香族氨基酸的第一步生物合成是由3-脱

收稿日期: 2003-03-18 修回日期: 2003-06-23

作者简介: 黄亚东(1964-),男,大学本科,工程硕士,高级讲师,系主任,发表论文30多篇,多次获奖。

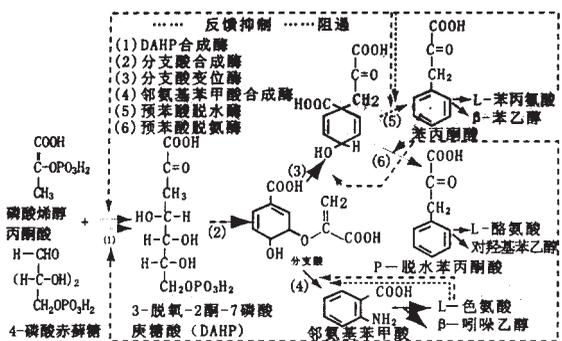


图1 啤酒酵母中芳香族氨基酸生物合成的调节

氧-2-酮-7磷酸庚糖酸合成酶 (DAHP合成酶)催化。DAHP合成酶是由两个亚基组成的同工酶。一个亚基对苯丙氨酸的反馈抑制敏感 (苯丙氨酸是ARO3基因编码),另一个对酪氨酸的反馈抑制敏感 (酪氨酸是ARO4基因编码)。这两个酶都受一般氨基酸生物合成的控制。

有些突变株能够大量产生苯乙醇。据报道,目前已有有人分离出了清酒酵母抗P-氟苯丙氨酸 (FPA)的突变菌株,所得到的这些突变菌株由于调节苯丙氨酸生物合成能力较弱,能够增加苯乙醇 (200 mg/L)和乙酸苯酯生成。有些突变菌株生产的清酒含有大量的苯乙醇,并具有细腻的芳香和良好的质量。

啤酒酵母的p-氟-dl-苯丙氨酸 (PEP)和O-氟-dl-苯丙氨酸 (OFP)突变菌株可以大量地产生苯乙醇。OFP抗性变异菌株中以酪氨酸为底物的DAHP合成酶的反馈抑制被解除,造成代谢流向分支酸;对FPA抗性突变菌株,酪氨酸合成中关键酶预苯酸脱氢酶 (PDH)的活性被降低,同时DAHP合成酶的活性增加,造成了代谢流向苯丙氨酸。PDH活性的降低是由于编码PDH的TYRL基因发生了变异。这个变异的基因被克隆,用于构建转化体,这个转化体表达了这个改变的基因,同时大量产生苯乙醇。DAHP合成酶活性增强的单倍体的转化体表达出了对酪氨酸反馈不敏感的DHAP合成酶,同时苯乙醇和酪氨酸的合成增加。用这个转化体生产的饮料酒风味特征得到了改善。

有人用HTG诱变处理用于生产酱油的罗氏结合酵母后,分离到了FDA突变体。苯乙醇也是酱油中的重要风味物质,这个突变体使苯乙醇的产生增加了38倍。罗氏接合酵母生物合成苯乙醇的途径与啤酒酵母基本相同。由于预苯酸脱氢酶活性下降,降低了胞内酪氨酸的浓度,并阻遏了预苯酸的生物合成。绝大多数的预苯酸将被转化为苯乙醇的前体物质——苯丙酮酸。

另一条增加苯乙醇产生的途径是转化前体物质苯丙氨酸。在含有2 g/L苯丙氨酸的培养基中,用各种酵母可以产生苯乙醇和乙酸苯酯。毕赤酵母和克勒酵母能够产生较高水平的乙酸苯酯,达

700~1700 mg/L。汉逊酵母和啤酒酵母也能有效地产生苯乙醇。

3 啤酒酵母中L-苯丙氨酸形成苯乙醇的途径

在从苯丙氨酸分解转化为苯乙醇的过程中,涉及3个酶。第1个氨基酸基转移酶,是一个转移酶而不是一个脱氢酶。第2个酶是丙酮脱羧酶,这个酶通过脱羧使酮酸变为醛。第3个酶是乙醇脱氢酶,它依赖催化醛成为相应的伯醇。

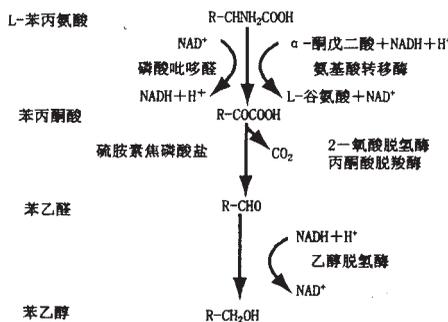


图2 啤酒酵母细胞中L-苯丙氨酸形成苯乙醇的途径

4 结果与讨论

4.1 对于葡萄酒酵母而言,涉及支链醛还原的同工酶是典型的发酵同工酶ADH-1。

4.2 当酵母以氨基酸为氮源(如麦汁或有氨盐存在)生长时,可以生成苯乙醇和其他杂醇,但必须有葡萄糖存在。在麦汁中,碳架由麦汁中的氨基酸生成,使用氨盐时,碳架从葡萄糖开始重新合成。

4.3 好氧环境可以促进苯乙醇的形成。

4.4 通常存在于细菌中的支链2-酮酸脱氢酶多复合体在啤酒酵母中也存在。由此可见,不是所有加入的氨基酸都可以在代谢产物中鉴定出来。对于苯丙氨酸,2-酮酸脱氢酶起了主要作用,因为酵母的丙酮酸脱氢酶不能转化苯丙酮酸。

4.5 苯乙醇可用环氧乙烷与苯缩合、精制而成。而利用啤酒酵母可以衍生出多种天然风味物质、风味前体物质或风味增强剂,与化学合成香料相比,具有无比的优越性。因此,随着食品配料的天然化及微生物应用技术的提高,今后将有越来越多的酵母菌种被用于生产天然香料,具有广阔的发展前景。

4.6 为了生产更多更好的天然风味物质,我们应在原料及菌种的选择、菌种诱变、代谢程序改变、苯乙醇的分离提纯等方面做深入细致的研究。

4.7 成品苯乙醇应装于镀锌铁桶内,并将桶口加以密封。

4.8 利用啤酒酵母产生风味物质苯乙醇既可改进酒类饮料的品质,亦可利用苯乙醇调制幻想型及玫瑰型香料,最大使用量可按“正常生产需要”使用。 ●

(上接第61页)

杀菌或冷却,必须注意温度梯度,尤其是玻璃瓶、易拉罐,瞬时温差要小于30℃,否则玻璃瓶易炸碎,易拉罐易扁。杀菌时间不宜过长,一般温度控制在95~100℃,杀菌时间控制在30 min内。杀菌时间过长,产品易变黑变黄;温度控制不当,造成生产损耗大(若调配成中性饮料,则杀菌温度应调至此121℃为宜)。

4 生产的专业化

企业以市场为导向,通过产品结构调整,必须遵循技术进步原则,加快进行ISO9000质量认证,建立完善的质量标准体系,提高专业化生产水平。

5 产品的系列化

我们生活在一个创新的时代,人们的思想观念、消费观念以及科技发展都在不断创新。开发新产品,使保健型米酒产品系列化,必须从营销的角度来实施。请遵循下列8个相互衔接的步骤<sup>[1]</sup>:新产品构思、新产品筛选、编辑新产品计划书、新产品设计、新产品试制、新产品评定、新产品试销、商业性投产。

参考文献:

[1] 熊宗贵.生物技术制药[M].北京:高等教育出版社,2000.  
[2] 郭本恒.乳品微生物[M].北京:中国轻工出版社,2001.  
[3] 李笑天.中国酒业营销学[M].香港:香港大象出版社,2002.