

啤酒酵母的基因改良途径

姚玉静,王尔茂

(广东食品药品职业学院,广东 广州 510520)

摘要: 利用基因工程可以在不改变啤酒酵母原有酿造特性的条件下,赋予啤酒酵母新的酿造特性。简述了基因工程在啤酒酵母改良上的应用和展望。

关键词: 微生物; 啤酒酵母; 基因工程; 改良途径

中图分类号: Q93-3; TS261.1; Q78

文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2009)07-0047-02

Genetic Improvement Approaches of Beer Barm

YAO Yu-jing and WANG Er-mao

(Guangdong Food & Pharmacy Occupational College, Guangzhou, Guangdong 510520, China)

Abstract: Beer barm could be endowed with new brewing properties by use of genetic engineering techniques without any change in its original brewing properties. In this paper, the application of genetic engineering in the improvement of beer barm was introduced and its application foreground was described.

Key words: microbe; beer barm; genetic engineering; improvement approaches

啤酒是当前最受欢迎的饮料之一,其质量与原辅料大麦芽、水、酒花和啤酒酵母株息息相关。其中,酵母菌种的优劣对啤酒质量起着重要作用。使用优良啤酒酵母在工艺中解决沉淀、口味及色泽变化、风味老化等问题是啤酒生产中的技术突破。

1 优良啤酒酵母的特性

1.1 良好的发酵力

能缩短发酵时间,提高效率;具有良好的合成麦芽糖和麦芽三糖渗透酶的能力;可利用麦芽糖和麦芽三糖进行发酵;能利用糊精使之分解。

1.2 合成酶

蛋白质和葡聚糖是引起啤酒混浊沉淀的两种重要物质,优良的啤酒应能产生蛋白酶和葡聚糖酶,使原料中的蛋白质和葡聚糖分解,从而减少混浊沉淀的生成,有助于过滤和提高啤酒的稳定性。

1.3 较强的耐受性

具有较强的对低温、压力、高浓度酒精和麦汁浓度的耐受性。

1.4 适度的凝集性

适当的凝集性,有利于实施连续化发酵,可达到较高的发酵度、沉淀坚实、易于分离。

1.5 改善风味

啤酒中的双乙酰含量达 0.1 mg/kg 以上时,便会产生类似冷饭腐败之不良气味,啤酒的爽快感消失。如酵母能产生 α -乙酰乳酸脱羧酶,则可使双乙酰的前驱物 α -乙酰乳

酸快速转化为 3-羟基-2-丁酮,并可缩短储酒时间^[1]。

1.6 稳定性强

具有较强的抗变异能力,可连续多代发酵而对发酵度、发酵速度、酒的风味等指标的影响明显。

1.7 抗嗜杀酵母

可产生杀手因子(Killerfactor,又称为嗜杀毒素)或具有抗嗜杀酵母(Killeryeast)的作用。这样,可抵抗各种杂菌的污染。

1.8 繁殖快

酵母细胞能很快进入对数生长期。

1.9 比表面积大

优良的酵母细胞长短轴之比一般为 1.1~1.3:1,体积大小在 100~160 μm^3 。

2 基因工程

所谓基因工程是在分子水平上对基因进行操作的复杂技术,是将外源基因通过体外重组后导入受体细胞内,使该基因能在受体细胞内复制、转录、翻译表达的操作。它是用人为的方法将所需要的某一供体生物的遗传物质——DNA 大分子提取出来,在离体条件下用适当的工具酶进行切割后,把它与作为载体的 DNA 分子连接起来,然后与载体一起导入某一更易生长、繁殖的受体细胞中,从而获得新物种的技术。

利用此技术从生物体内提取出欲表达的基因或人工合成的 DNA,介入到适当的载体上,再转入啤酒酵母细胞中,使遗传物质重新组合,有望改良啤酒酵母。

收稿日期:2009-03-18

作者简介:姚玉静(1979-),女,讲师,研究方向:食品蛋白质化学与工程。

2.1 降低双乙酰含量

双乙酰是啤酒发酵过程中形成的副产物,来自酵母的亮氨酸、缬氨酸生物合成的中间产物 β -乙酰乳酸,后经氧化脱羧反应自发形成。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,此过程涉及5个酶基因已全部克隆出来,命名为ILV1、ILV2、ILV3、ILV4、ILV5,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、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3个方面进行:

①将乙酰乳酸脱氨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。研究人员已分别从上述3方面入手取得了成功。

2.2 选育嗜杀啤酒酵母

减少或消除微生物的侵染是酵母遗传学应用上的一个重要方面。在啤酒酿造过程中,防止野生酵母和细菌的侵染是至关重要的。Ymashita等人^[5]成功地将嗜杀酵母的基因转到啤酒酵母中,嗜杀啤酒酵母能抑制发酵过程中野生酵母的生长,净化发酵系统。

2.3 提高生香物质含量

啤酒酿造的一个重要方面是香味物质的生成,其生成量可以通过基因工程技术加以控制,乙酸异戊酯和乙酸乙酯是啤酒中的香味物质,乙醇乙酰转移酶在其形成过程中发挥着重要作用,将乙醇乙酰转移酶基因引入啤酒酵母中,能够使啤酒香味增强。T.Fuji等人^[6]从*S.cerevisiae*和*S.uvarum*品系中克隆编码此酶的基因,转导到酵母细胞中,结果乙醇乙酰转移酶表现出高活性,强化了啤酒的香味。

2.4 培育可降解大分子蛋白质的酵母,提高啤酒的胶体稳定性

啤酒酵母的胞外蛋白酶很弱,所以酵母主要利用麦汁中的氨基酸为氮源进行同化,而麦汁中残留的大分子蛋白质很容易影响啤酒的胶体稳定性。Young等成功地将外源的蛋白水解酶基因导入啤酒酵母的基因组中;Geinsohn等构建了表达凝乳酶活性的工程菌,能发酵麦汁中的多肽物质。利用这些重组酵母酿造的啤酒胶体稳定性得到了改善。

2.5 分解葡聚糖酵母的研究

选育具有分解葡聚糖能力的啤酒酵母可以提高啤酒的稳定性。Hinchliffe^[7,8]成功地将*B.subtilis*的葡聚糖酶基因转移到啤酒酵母中,获得了具有分解葡聚糖能力的啤酒酵母。缺点是菌株的葡聚糖酶的活力较低,其原因主要是因为该酶为胞内酶;另一方面,*B.subtilis*的基因不能在酵母细胞中有效地表达。Meaden等人^[9]成功地用*B.subtilis*克隆了具有分解葡聚糖功能的啤酒酵母。Penttila等人^[10]则成功地将真菌的葡聚糖克隆而获得一株具有较强的分解葡聚糖能力的改良啤酒酵母,该菌株可显著地降低葡聚糖带来的危害,对啤酒质量无任何影响。

2.6 改变酵母耐受性

通过提高啤酒酵母对各种环境因素的耐受性,可显著提高发酵水平,例如高浓度啤酒酿造需要酵母有较高的耐

酒精能力;如果酵母能够在较高的温度发酵,而不影响产品质量,就会使冷却损耗减少,代谢率提高;如果提高酵母的耐二氧化碳能力,就会使在巨大、深层发酵罐或压力容器里发酵成为可能。上述都可以通过基因工程得以实现。

2.7 分解糊精啤酒酵母的选育

Innis等人^[11]成功地构建成能够产生分解糊精的胞内糖化酶的啤酒酵母菌种,该菌株可以分解麦汁中的残余的糊精。Amanda等人^[12,13]通过对克隆糖化酶基因的研究证实了即使不需要高表达的启动子,也可以产生具有足够量糖化酶活力的啤酒酵母菌株,此菌株可分解麦汁中70%的糊精。

3 小结

为了保证纯种发酵和质量稳定,酵母菌种的稳定性至关重要。因此,改良酵母必须保持其新获得的性状。但目前的研究只局限于改良啤酒酵母的某一种性状,而不能同时改良啤酒酵母的几个性状。显然,这是一个值得研究的方向。随着啤酒工业基础研究工作的深入开展及现代分子生物学、遗传学、基因工程技术的发展,酵母菌株的遗传学改良已经取得了很大的进步,相信不久的将来,经遗传改良的啤酒酵母将广泛地应用于啤酒酿造工业,显示出其巨大的价值。

参考文献:

- [1] 张秀丽,唐晓达,蔡车国,等.低双乙酰啤酒酵母菌株 BEZ112 的选育[J].工业微生物,2003,33(2):38-40.
- [2] 刘增然,张光一,鞠国泉,等.后熟期短的限酒酵母工程菌构建[J].食品科学,2006,27(8):83-86.
- [3] 李艳,张润,王正详,等.羟酸还原异构酶基因在啤酒工业酵母中的整合表达[J].无锡轻工大学学报,2003,22(3):53-61.
- [4] 张吉娜,何秀萍,郭雪娜,等.低双乙酰抗老化啤酒工程菌的构建[J].生物工程学报,2005,21(6):942-946.
- [5] Yomashita I.,Takano Y.,Fukui S. Control of STA1 gene expression by the mating-type locus in yeasts[J]. Journal of Bacteriology, 1985,(164):769-773.
- [6] Dranginis, A.M. Regulation of STA1 gene expression by MAT during the life cycle of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Molecular and Cellular Biology, 1989,(9):3992-3998.
- [7] Hinchliffe E. Cloning and expression of a Bacillus subtilis endo-1,3-1,4- β -D-glucanase gene in Escherichia coli K12[J]. Journal of General Microbiology, 1984,(130):1285-1291.
- [8] Hinchliffe E. The studies of gene reconstructive microzyme disassemble dextrin of wort[J]. Journal of the Institute of Brewing, 1985,(91):384-389.
- [9] Meaden P.G., Tubb R.S[J]. European Brewery Convention Proceeding of the 20th Congress, Helsinki, 1985.
- [10] ME Penttil?, ML Suihko, U Lehtinen, et al. Construction of brewer's yeasts secreting fungal endo-?-glucanase[J]. Current Genetics, 1987,(12):413-420.
- [11] Innis M., Holland M.J., Cole G.E., et al. Expression, glycosylation, and secretion of an Aspergillus Glucoamylase by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Science, 1985,(228):21-26.
- [12] Philip G., PG Meaden, et al. Multiple -Glucoside transporter genes in brewer's yeast[J]. J.Inst.Brew, 1999,(65):450-456.
- [13] Dranginis A.M. Regulation of STA1 gene expression by MAT during the life cycle of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Molecular and Cellular Biology, 1989,(9):3992-3998.