

1 酵母菌細胞萃取物將硫醇前驅物轉化為葡萄酒香氣化合物 4-mercapto-4- 2 methylpentan-2-one

3 李玉婷 (5121)

4 2020/05/20

5 大綱

6 一、前言

7 二、硫醇前驅物 Cys-4MMP 之鑑定分析

8 三、酵母菌細胞萃取液之製備

9 四、酵母菌細胞萃取液之 β -lyase 活性分析

10 五、結論

11 摘要

12 揮發性硫醇 4-mercapto-4-methylpentan-2-one (4MMP) 是葡萄酒發酵過程中酵母菌
13 的代謝產物，帶有黃楊木、黑醋栗般的香氣，其具有極低的感官閾值 (Threshold)，為葡
14 萄酒中獨特且重要的香氣化合物。然而市面上香料多以化學合成法製成，現今全球市場
15 對於天然香料的需求逐年增加，故本研究將以酵母菌細胞萃取物轉化的方式製備葡萄酒
16 香氣化合物 4MMP，篩選並評估不同酵母菌來源的 β -lyase 從硫醇前驅物釋放香氣化
17 合物的能力。將人工合成之半胱氨酸共軛前驅物 Cys-4MMP 以 Electrospray Ionization
18 Mass Spectrometry (ESI-MS) 與 Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy 鑑定
19 後，確認了其為目標化合物。接著將三株 *S. cerevisiae* 及四株 *Non-Saccharomyces* 之細
20 胞萃取物與四種不同基質反應進行 β -lyase 活性分析，結果顯示 *S. cerevisiae* 21584、*S.*
21 *pombe* 與 *K. lactis* 對於 1 mM L-cystathionine、1 mM L-methionine、1 mM L-cystine 及
22 1 mM Cys-4MMP 之基質皆具有較佳的 β -lyase 活性，其中 *S. cerevisiae* 21584 的表現
23 尤佳，其比活性分別為 39.79 ± 2.21 、 36.42 ± 1.22 、 19.98 ± 2.44 及 44.34 ± 1.41 U/mg
24 protein。綜合上述結果，藉由細胞萃取液於不同基質轉化之 β -lyase 活性分析結果篩選
25 出具有較佳之 *S. cerevisiae* 21584、*S. pombe* 及 *K. lactis* 細胞萃取液具有作為酵母菌細
26 胞萃取物轉化葡萄酒香氣化合物 4MMP 之潛力。

1 参考文献

- 2 Darriet, P., Tominaga, T., Demole, E., & Dubourdieu, D. (1993). Mise en évidence dans le
3 raisin de *Vitis Vinifera* var. Sauvignon d'un précurseur de la 4-mercapto-4-
4 méthylpentan-2-one. *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de*
5 *la vie*, 316(11), 1332-1335.
- 6 Engel, K.-H. (1999). The Importance of Sulfur-Containing Compounds to Fruit Flavors. In R.
7 Teranishi, E. L. Wick & I. Hornstein (Eds.), *Flavor Chemistry: Thirty Years of*
8 *Progress*, (pp. 265-273). Boston, MA: Springer US.
- 9 Holt, S., Cordente, A. G., & Curtin, C. (2012). *Saccharomyces cerevisiae* STR3 and yeast
10 cystathionine β -lyase enzymes. *Bioengineered*, 3(3), 180-182.
- 11 Howell, K. S., Klein, M., Swiegers, J. H., Hayasaka, Y., Elsey, G. M., Fleet, G. H., Hoj, P. B.,
12 Pretorius, I. S., & Lopes, M. A. D. (2005). Genetic determinants of volatile-thiol release
13 by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. *Applied and Environmental*
14 *Microbiology*, 71(9), 5420-5426.
- 15 Mestres, M., Busto, O., & Guasch, J. (2000). Analysis of organic sulfur compounds in wine
16 aroma. *Journal of Chromatography A*, 881(1-2), 569-581.
- 17 Roncoroni, M., Santiago, M., Hooks, D. O., Moroney, S., Harsch, M. J., Lee, S. A., Richards,
18 K. D., Nicolau, L., & Gardner, R. (2011). The yeast *IRC7* gene encodes a β -lyase
19 responsible for production of the varietal thiol 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in
20 wine. *Food Microbiology*, 28(5), 926-935.
- 21 Thibon, C., Marullo, P., Claisse, O., Cullin, C., Dubourdieu, D., & Tominaga, T. (2008).
22 Nitrogen catabolic repression controls the release of volatile thiols by *Saccharomyces*
23 *cerevisiae* during wine fermentation. *FEMS Yeast Research*, 8(7), 1076-1086.
- 24 Tominaga, T., Des Gachons, C. P., & Dubourdieu, D. (1998a). A new type of flavor precursors
25 in *Vitis vinifera* L cv Sauvignon Blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural*
26 *and Food Chemistry*, 46(12), 5215-5219.
- 27 Tominaga, T., Furrer, A., Henry, R., & Dubourdieu, D. (1998b). Identification of new volatile
28 thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon Blanc wines. *Flavour and*
29 *Fragrance Journal*, 13(3), 159-162.