酿酒糟醅中生香酵母的筛选及培养条件

赵志军[1,2]，王瑞卿[1,2]，刘延波[1,2]，刘 宁[1,2]，王洪彬[3]，孙西玉[1,2,4]，潘春梅[*1,2]

（1. 河南牧业经济学院 食品与生物工程学院(酒业学院)，河南 郑州 450046；2. 河南牧业经济学院 河南省白酒风格工程技术研究中心，河南 郑州 450046；3. 赊店老酒股份有限公司，河南 社旗 473300；4. 河南张弓老酒酒业有限公司，河南 宁陵 476733）

摘要：为了提高浓香型白酒品质，作者以酿酒糟醅为原料，采用平板涂布法分离纯化出酵母菌，再通过液态发酵筛选出高产酯的菌株，并对其进行生理生化鉴定及 26S rDNA 同源性分析，最后采用响应面法对菌株的培养条件进行优化。结果表明：作者从酿酒糟醅中分离出 1 株产香浓郁的菌株，编号为 S5。经鉴定 S5 菌株为异常威克汉姆酵母(*Wickerhamomyces anomalus*)。优化后的最佳培养条件为初始 pH 4.95，发酵时间 3 d，初始糖(葡萄糖)质量浓度 6 g/dL，在此条件下发酵液中总酯质量浓度为 7.67 g/L，比优化前提高了 64.2%。由此可见，S5 菌株对浓香型白酒品质的提高具有潜在的应用价值。

关键词：酿酒糟醅；生香酵母；菌株筛选；生香酵母培养条件

中图分类号：TS 261.1　**文章编号**：1673-1689(2020)09-0061-07　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.09.009

Screening of Aroma-Producing Yeast in Distiller´s Grains and Optimization of Culture Conditions

ZHAO Zhijun[1,2]，*WANG Ruiqing*[1,2]，*LIU Yanbo*[1,2]，*LIU Ning*[1,2]，*WANG Hongbin*[3]，*SUN Xiyu*[1,2,4]，*PAN Chunmei*[*1,2]

(1. College of Food and Biological Engineering (Liquor College), Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China; 2. Henan Liquor Style Engineering Technology Research Center, Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China; 3. Shedianlaojiu Co. Ltd., Sheqi 473300, China; 4. Henan Zhanggonglaojiu Wine Co. Ltd., Ningling 476733, China)

Abstract: In order to improve the quality of Luzhou-flavor liquor, the yeasts were isolated by traditional microbial separation from the distiller's grains. The strain with high yield of ester was screened by liquid fermentation and identified by physiological biochemical tests and 26S rDNA homology analysis. Finally, the Box-Behnken center combination method was used to optimize the culture conditions for the strain. The results showed an aroma-producing yeast, numbered S5, was isolated from the distiller's grains and identified as Wickerhamomyces anomalus. The optimal fermentation was obtained under the following conditions: initial pH 4.95, fermentation time 3 d, the initial sugar content 6 g/dL. Under the conditions, the total ester content was 7.67 g/L, which was

收稿日期：2019-04-15

基金项目：河南省重大科技专项(181100211400)；河南牧业经济学院重点学科项目。

作者简介：赵志军(1973—)，男，讲师，主要从事微生物学、发酵工程研究。E-mail：80625@hnuahe.edu.cn

*通信作者：潘春梅(1976—)，女，博士，教授，主要从事发酵工程研究。E-mail：：13073797932@163.com

more than 64.2% than that before optimization. Thus the strain can be used to improve the quality of Luzhou-flavor liquor.

Keywords: distiller's grains, aroma-producing yeast, screening, culture condition

我国浓香型白酒采用泥窖续糟，固态发酵工艺，历来有“千年老窖，万年糟”的说法。糟醅的质量对浓香型白酒的酿造起着非常重要的作用[1]。糟醅是已发酵完毕等待蒸馏的物料[2]，是酿酒微生物代谢发酵的主要场所。微生物在其中进行糖化、酒化、酸化和酯化等一系列生化反应过程[3]，所以糟醅中的微生物品质影响着出酒率的高低和酒质的优劣[1]。

酵母作为糟醅发酵的主要功能菌之一，依据其功能可分为酿酒酵母和生香酵母[4-5]。酿酒酵母具有较强的产酒精能力，代谢产物主要是酒精。生香酵母对酸、醇有较强的酯化能力，产生的香气物质以酯类为主，还有醇类、酸类、醛类、酮类、胺类、芳香族类等[6-7]。这些香味物质是产生酒体芳香及促进酒体丰满的关键化合物[8]。现已报道的生香酵母包括异常汉逊酵母[9]、假丝酵母[10]、毕赤酵母[11]、异常威克汉姆酵母[12]等。作者旨在从赊店老酒的糟醅中分离得到优良的产酯酵母菌菌株，并采用响应面法对其培养条件进行优化，以期将其培养液投入窖池，为提高浓香型白酒基酒的质量奠定一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料来源 酿酒糟醅：赊店老酒股份有限公司提供。

1.1.2 实验试剂 蛋白胨、酵母浸粉、琼脂粉等常规试剂：均购自北京奥博星生物技术有限责任公司；青霉素：购自华北制药集团动物保健品有限责任公司。

1.1.3 筛选培养基 PDA 固体培养基：马铃薯浸粉 3 g/L，葡萄糖 20 g/L，琼脂粉 15 g/L。

1.1.4 活化培养基 YEPD 液体培养基：酵母粉 10 g/L，葡萄糖 20 g/L，蛋白胨 20 g/L。

1.1.5 发酵产酯培养基 豆芽汁培养基：黄豆芽 10 g，葡萄糖 5 g，水 100 mL。将新鲜黄豆芽洗干净，小火煮沸 0.5 h，用纱布过滤，补足水分。

1.2 仪器与设备

SW-CJ-2F 超净工作台：苏州净化设备有限公司产品；LDZX-50KBS 高压蒸汽灭菌锅：上海申安医疗器械厂制造；GH-500 隔水式培养箱：北京科伟永兴仪器有限公司产品；ZQLY-300S 摇床：上海知楚仪器有限公司产品；恒温水浴锅：常州方科仪器有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 生香酵母的初筛 称取 10 g 混匀的糟醅于 90 mL YEPD 液体培养基中，摇床 28 ℃、120 r/min，培养 24 h。用移液枪吸取菌悬液 1 mL 至 9 mL 无菌水中，并依次梯度稀释至 1×10^{-6} 倍，取稀释度 1×10^{-4}、1×10^{-5}、1×10^{-6} 的菌悬液各 0.1 mL 均匀涂布于添加 80 mg/L 青霉素的 PDA 固体培养基表面，置于 28 ℃恒温培养 48 h，挑取长势良好的单菌落划线转接到 PDA 培养基上，28 ℃条件下培养 72 h，长出的单菌落再次划线至完全纯化，斜面保存备用。

1.3.2 生香酵母的复筛 对初筛保存的菌株进行活化复筛。每支保存的斜面试管菌种，挑取一环接种至 YEPD 液体培养基中，28 ℃培养 24 h，制成种子液。将制备好的种子液以体积分数 2%接种量接种于装有 100 mL 发酵产酯培养基的 250 mL 三角瓶中，恒温摇床 28 ℃、120 r/min 条件下培养 5 d，测定总酯产量(质量浓度)。

1.3.3 总酯的测定 总酯测定方法采用皂化中和滴定法[13]。

1.3.4 菌株鉴定

1）菌株形态学鉴定及生理生化试验 菌落形态观察：将被检菌用稀释平板法在 PDA 培养基上 28 ℃培养 48 h，观察菌落的颜色、大小、表面形态、边缘形态、质地等并做记录。

细胞形态鉴定：将平板上的菌落用接种针挑取一环制片，在显微镜下观察。

初步生理生化试验按照《酵母菌的特征与鉴定手册》[14]进行，主要包括糖发酵实验、硝酸盐利用实验、类淀粉物质生成实验、脲酶实验等。

2）菌株 26S rDNA 鉴定 使用酵母 DNA 基因组快速提取试剂盒提取酵母基因组 DNA，酵母扩增引物为通用引物对 NL1 和 NL4。反应体系为 50 μL

(San Taq PCR Mix 预混液 25 μL,引物各 2 μL,DNA 模板 2 μL,ddH_2O 19 μL)。PCR 扩增条件:94 ℃,5 min;94 ℃,40 s,53 ℃,45 s,72 ℃,45 s,35 个循环;最后 72 ℃延伸 10 min。取 3 μL PCR 产物经 1 g/dL 琼脂糖凝胶电泳检测产量和特异性,将 PCR 产物送交上海生物生工有限公司进行测序,将测序所得特定序列,在 NCBI 上通过 BLAST 程序进行同源性比较与分析,用 MEGA6.0 软件构建系统发育树。

1.3.5 筛选酵母培养条件的研究

1)初始 pH 对筛选酵母产酯量(质量浓度)的影响　为了确定筛选酵母适宜培养的初始 pH,用 0.1 mol/L 的盐酸调节豆芽汁培养基的 pH 值,分别至 3、4、5、6、7,接种所筛选得到的酵母,在 28 ℃、120 r/min 条件下,培养 5 d,进行小型发酵试验,测定发酵液中总酯质量浓度。

2)初始糖质量浓度对筛选酵母产酯量的影响　调节豆芽汁培养基的初始糖质量浓度分别为 2、4、6、8、10 g/dL。恒温摇床 28 ℃、120 r/min 条件下培养 5 d,发酵结束后测发酵液总酯质量浓度。

3)发酵时间对筛选酵母产酯量的影响　用豆芽汁培养基培养筛选出的酵母菌株,在 28 ℃、120 r/min 条件下培养。选取发酵开始后的第 2、3、4、5、6、7 天分别取样测的发酵液总酯质量浓度。

1.3.6 响应面实验　在单因素实验的基础上,选取相关性大的 3 个因素为自变量,以总酯的产量(质量浓度)为指标进行 17 组 5 个中心点的 Box-Behnken 响应面分析[15-17],每个因素均设 3 个平行。

1.3.7 数据处理　运用 Excel 2013 和 Design-Expert 8.0.6 软件对实验结果进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 生香酵母的筛选结果

通过在 PDA 琼脂平板上多次分离纯化后,共分离出 22 株疑似酵母菌的菌株(菌落编号 S1—S22),将纯化的 22 株菌株进行筛选,其产酯结果见表 1。由表 1 得到,在相同的培养条件下,酵母菌株 S5 发酵液总酯质量浓度为 4.67 g/L,产酯能力强,是比较理想的产酯酵母。因此,选用 S5 菌株进行后续试验研究。

2.2 生香酵母鉴定结果

2.2.1 菌株形态和生理生化试验结果　对菌株 S5 进行菌落形态观察,并划线于 PDA 培养基上培养,

表 1　不同菌株发酵液中总酯产量

Table 1　Total ester contents in fermentation broth of different strains

菌株编号	总酯产量/(g/L)	菌株编号	总酯产量/(g/L)
S1	1.92	S12	3.05
S2	2.13	S13	2.97
S3	1.68	S14	2.23
S4	2.08	S15	2.59
S5	4.67	S16	2.62
S6	2..45	S17	2.53
S7	2.15	S18	3.61
S8	1.67	S19	2.95
S9	3.14	S20	3.58
S10	2.83	S21	2.62
S11	2.78	S22	2.23

观察菌落形态特征,结果见图 1。菌株 S5 在 PDA 琼脂培养基上菌落呈乳白色,边缘整齐,表面光滑,中央凸起,有水果香气。通过生理生化试验,该菌株能发酵葡萄糖,能利用硝酸盐,不能生成类淀粉物质,能水解尿素。

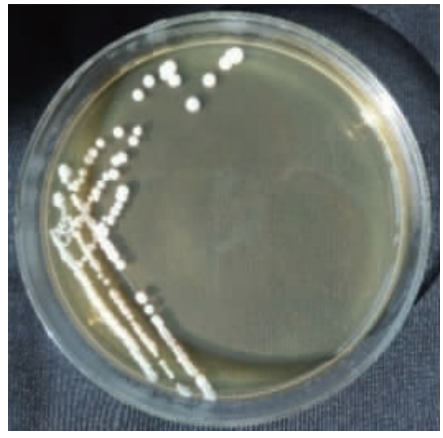


图 1　菌株 S5 的菌落形态

Fig. 1　The colony morphology of strain S5

2.2.2 菌株的分子鉴定　对菌株 S5 的 26S rDNA 的 PCR 扩增产物进行序列测序。将测序结果与 NCBI 数据库进行 Blast 比对分析,对比结果显示 S5 菌株与现已有的异常威克汉姆酵母的同源性达 100%,利用 MEGA6.0 软件构建系统发育树,如图 2 所示。结合 S5 的形态,生理生化试验结果以及 S5 的系统发育树,可以确定 S5 为异常威克汉姆酵母(*Wickerhamomyces anomalus*)。

2.3 初始 pH 对筛选酵母产酯量影响的结果

根据 1.3.5 中设定的发酵培养基初始 pH 值进

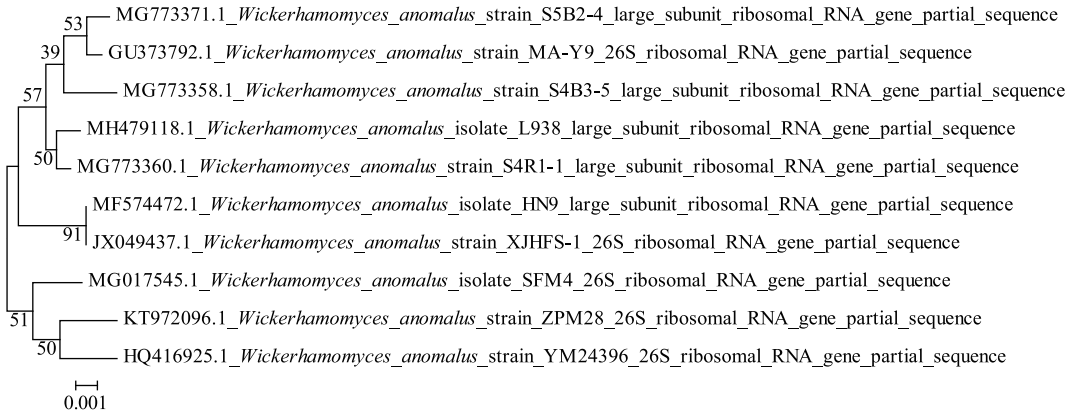


图 2　系统发育树

Fig. 2　Phylogenetic tree

行小型发酵试验，结果见图 3。随着初始 pH 的升高，发酵液中总酯质量浓度显著提高，pH 为 5 时达到最大，然后随 pH 升高发酵液中总酯的质量浓度有所下降。说明该菌株在 pH 为 5~6 的培养基中有较好的产酯能力，尤其是在 pH 为 5 的时候达到最高，总酯质量浓度为 4.15 g/L。

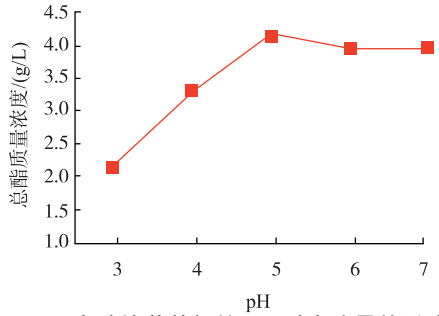


图 3　发酵培养基初始 pH 对产酯量的影响

Fig. 3　Effect of initial pH of fermentation medium on the production of ester

2.4　初始糖质量浓度对筛选酵母产酯量影响的结果

根据 1.3.5 中设定的发酵液初始糖质量浓度，进行小型发酵试验，结果见图 4。随着发酵液初始糖质量浓度的增加，发酵液总酯质量浓度是先上升后下降。葡萄糖添加量为 6 g/dL 时总酯质量浓度达 4.13 g/L，表明菌株发酵产酯的最佳初始糖质量浓度为葡萄糖添加量为 6 g/dL。当培养基的初始糖质量浓度过高，培养基渗透压会增大，影响生香酵母的产酯能力。

2.5　发酵时间对筛选酵母产酯量影响的结果

发酵时间对产酯量的影响见图 5。由图 5 可知，发酵 3 d 时总酯质量浓度最高，达到 4.55 g/L。但随着发酵时间的增长，发酵液的总酯质量浓度下降与

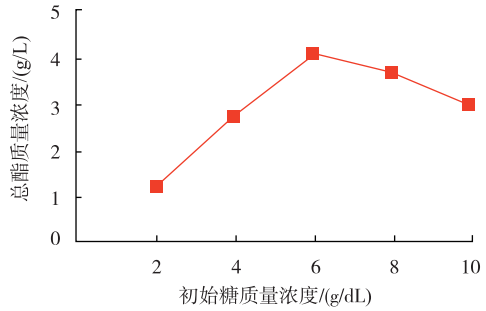


图 4　初始糖度对产酯量的影响

Fig. 4　Effect of initial sugar content on ester yield

廖永红等[18]在对 3 种产酯酵母总酯的生成特性研究时发现的结论一致，其可能原因是随发酵时间的延长，发酵液中难挥发性酯类也逐渐转变为易挥发性酯类或其他物质所致，因此 S5 生成总酯的适宜发酵时间为 3 d。

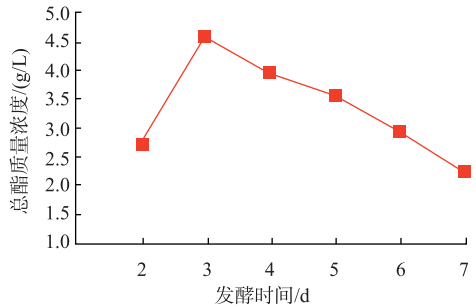


图 5　不同发酵时间对总酯生成量的影响

Fig. 5　Effect of different fermentation time on total ester production

2.6　响应面的结果与分析

2.6.1　*回归模型建立及方差分析*　在单因素的基础上，选取培养基初始 pH(A)，发酵时间(B)，培养

基初始糖质量浓度（C)3 个对产酯影响显著的因素为自变量,以总酯质量浓度为响应值,进行响应面试验。试验设计及试验结果见表 2。

表 2　响应面设计及其结果

Table 2　Response surface design and the results

试验序号	A	B	C	Y:总酯质量浓度/(g/L)
1	−1	−1	0	2.025
2	1	−1	0	1.458
3	−1	1	0	2.824
4	1	1	0	2.063
5	−1	0	−1	1.987
6	1	0	−1	1.164
7	−1	0	1	3.397
8	1	0	1	3.021
9	0	−1	−1	2.049
10	0	1	−1	2.285
11	0	−1	1	2.916
12	0	1	1	2.778
13	0	0	0	7.384
14	0	0	0	7.935
15	0	0	0	8.054
16	0	0	0	7.749
17	0	0	0	7.571

通过响应面分析软件(Design-Expert8.0.6)对表 2 中的数据进行分析,得到数学模型,并对数学模型进行方差分析，得到模型和回归系数的显著性,结果见表 3。

对因素进行二次回归拟合分析,建立显著因素的拟合方程:

$$Y=7.74-0.32A+0.19B+0.58C-0.049AB+0.11AC-0.094BC-2.88A^2-2.77B^2-2.47C^2$$

由表 3 可知,响应面模型极其显著,其模型的回归系数为 99.11%,R^2_{adj} 为 97.97%。说明该模型模拟度较好可以用此模型来预测该菌株的产酯能力。失拟项不显著(P>0.01),说明本试验所得二次回归方程能够很好地对响应值进行预测。在此模型中 A^2、B^2、C^2 的 P 值均小于 0.01,说明该菌株发酵过程中发酵液的初始 pH、培养时间和发酵液的初始糖质量浓度对产酯的影响是非常显著的。

2.6.2　*响应曲面分析*　当各因素大小从四周逐渐趋向中心点时,曲面图呈凸起趋势,说明相关因素交互作用越强,即菌株发酵产酯能力趋向最大化,

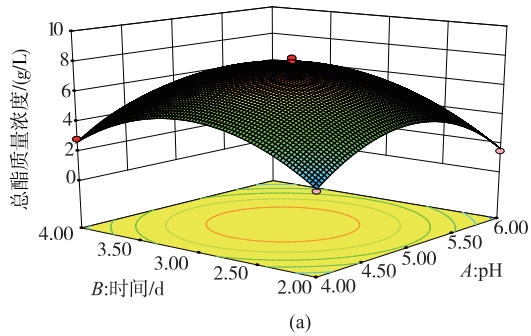
表 3　回归模型方差分析

Table 3　Variance analysis of regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	107.44	9	11.94	86.88	< 0.000 1	**
A	0.80	1	0.80	5.81	0.046 8	*
B	0.28	1	0.28	2.05	0.195 1	
C	2.68	1	2.68	19.48	0.003 1	**
AB	9.409×10^{-3}	1	9.409×10^{-3}	0.068	0.801 1	
AC	0.50	1	0.50	0.36	0.565 6	
BC	0.035	1	0.035	0.25	0.629 4	
A^2	34.93	1	34.93	254.24	< 0.000 1	**
B^2	32.21	1	32.21	234.38	< 0.000 1	**
C^2	25.60	1	25.60	186.33	< 0.000 1	**
残差	0.94	7	0.14			
失拟项	0.67	3	0.22	3.06	0.154 2	
纯误差	0.29	4	0.073			
总和	108.40	16				
R^2=0.991 1			R^2_{adj}=0.979 7			

注:“*”表示显著(P<0.05);“**”表示极显著(P<0.000 1)

说明存在最大响应值[19]。由图 6(a)可以发现,当初始糖质量浓度一定时,pH 和发酵时间的值由小变大时,曲线出现先上升后下降的趋势。图 6(b)、(c)也出现当某一因素一定时,其余 2 种因素的图像也呈先上升后下降的趋势,说明该模型因素之间的相互作用较强，存在最大响应值。运用软件 Design-Expert 8.0.6 对结果进行分析,得到在 pH 为 4.95,发酵时间为 3.03 d,初始糖质量浓度为 6.23 g/dL 时发酵液中总酯质量浓度达到最大,为 7.78 g/L。考虑到实际情况,调整发酵时间为 3 d,初始糖质量浓度为 6 g/dL 进行验证试验。结果显示,3 次重复试验中总酯质量浓度均值为 7.67 g/L,与理论值的误差较小,说明优化出的产酯条件可靠,具有实用价值。



(a)

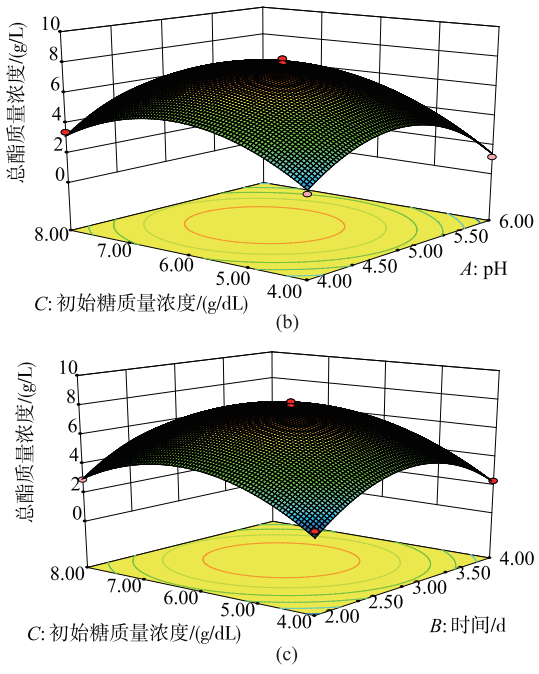


图 6　响应面三维立体图

Fig. 6　Response surface（3D）diagram

3 结　语

作者通过从糟醅中分离筛选得到一株产酯能力较好的菌株 S5，在 28 ℃、120 r/min 的条件下培养 5 d，产酯培养基中总酯质量浓度达 4.67 g/L。经过形态学观察，生理生化及分子生物学鉴定，确定菌株为异常威克汉姆酵母（*Wickerhamomyces anomalus*）。在单因素实验的基础上，通过响应面法对菌株 S5 的培养条件进行优化，得到该菌株最适发酵产酯条件为 pH 4.95，发酵时间 3 d，初始糖质量浓度 6 g/dL。在此条件下，该菌株发酵液总酯质量浓度为 7.67 g/L，与预测值 7.78 g/L 的相对误差仅为 1.4%，产酯量比未优化之前提高了 64.2%。此前王鹏昊[20]报道从工业化小曲中分离出 1 株异常威克汉姆酵母（*Wickerhamomyces anomalus*），该酵母总酯产量达 4.065 g/L。综合比较，本实验筛选出的异常威克汉姆酵母在优化后其发酵液总酯质量浓度达 7.67 g/L，说明该菌株产酯量较高，在白酒发酵时该菌株能提高酒中酯类物质的质量浓度，提升浓香型白酒的品质。

该研究得到的产酯能力较好的酵母菌菌株是从实际生产用酿酒糟醅中分离获得，能够适应生产环境。应用响应面法优化提高了该菌株的产酯能力，更有利于在生产环节中的应用。虽然该研究是在实验室条件下完成并获得的实验数据，与实际生产会有一定的差异，但考虑到该菌株本身来自生产所用糟醅，能够适应各种发酵因素对其的影响。若将其扩大培养投入酿酒糟醅中，对提高原酒中酯类含量以及成品酒酒质必然会有一定的帮助。该研究中所筛选出的酵母菌株为进一步在实践中的应用奠定了基础。

参考文献：

[1] 付勋，刘兴平，敖宗华，等. 浓香型白酒典型糟醅及其发酵影响因素研究进展[J]. 北京工商大学学报（自然科学版），2011，29（6）：54-57.

[2] 赵军，李桢，王征征，等. 浓香型白酒糟醅微生物初步研究[J]. 黑龙江畜牧兽医，2015（15）：162-165.

[3] 赵东，乔宗伟，彭志云. 浓香型白酒发酵过程中酒醅微生物区系及其生态因子演变研究[J]. 酿酒科技，2007，2007（7）：37-39.

[4] 范广璞. 白酒中生香酵母的筛选及培养条件的研究[J]. 中国酿造，2008，（14）：44-47.

[5] LARSSON S，CASSLAND P，JONSSON L J. Development of a *Saccharomyces cerevisiae* strain with enhanced resistance to phenolic fermentation inhibitors in lignocellulose hydrolysates by heterologous expression of laccase[J]. **Applied and Environmental Microbiology**，2001，67（3）：1163-1170.

[6] 王国良，宋俊梅，曲静然. 生香酵母及其应用[J]. 食品工业，2004，（3）：16-17.

[7] PIRES E J，TEIXEIRA J A，BRANYIK T，et al. Yeast：the soul of beer's aroma—a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**，2014，98（5）：1937-1949.

[8] DING X，WU C，HUANG J，et al. Characterization of interphase volatile compounds in Chinese Luzhou-flavor liquor fermentation cellar analyzed by head space-solid phase micro extraction coupled with gas chromatography mass spectrometry（HS-SPME/GC/MS）[J]. **LWT-Food Science and Technology**，2016，66：124-133.

[9] 严锦，李锐利，李文，等. 小曲中产酯酵母的分离鉴定及其在酿酒生产中的应用[J]. 酿酒科技，2014，（2）：48-52.

[10] 乔传丽，蒋彩虹，金丹，等. 新疆传统发酵酸奶中酵母菌的分离鉴定及系统发育分析[J]. 中国酿造，2017，36（4）：67-71.

[11] 蔡雪梅,吴联海,陈梦圆,等. 酱香型白酒酒糟中生香酵母的筛选及鉴定[J]. 中国酿造,2017,36(7):42-47.
[12] 王益姝,钱超,黄卫宁,等. 梅兰春酒醅中生香酵母的分离鉴定及其发酵面包香气成分分析[J]. 食品与发酵工业,2016,42(9):45-51.
[13] 陆振群. 产酯类酵母菌的选育[D]. 芜湖:安徽工程大学,2012.
[14] 巴尼特. 酵母菌的特征与鉴定手册[M]. 青岛:青岛海洋大学出版社,1991.
[15] 曹家明,韦利军,刘福松. 响应面优化重组大肠杆菌表达 RGD-TRAIL 发酵工艺[J]. 食品与生物技术学报,2018,37(3):283-288.
[16] 肖婧,徐亚男,李琦,等. 高产 γ- 氨基丁酸酵母菌的筛选、鉴定及优化[J]. 食品与生物技术学报,2016,35(10):1093-1099.
[17] 黄筱萍,黄国昌,金丹凤,等. 酿酒酵母静息细胞转化合成 2- 苯乙醇[J]. 食品与生物技术学报,2017,36(12):1316-1323.
[18] 廖永红,沈晗,石文娟,等. 产香酵母碳源利用及发酵产香特性初步研究[J]. 食品与发酵工业,2010,36(2):1-7.
[19] 明红梅,周健,陈蒙恩,等. 大曲中异常威克汉姆酵母发酵产苯乙醇的条件优化[J]. 湖北农业科学,2015,54(14):3492-3496.
[20] 王鹏昊,关统伟,张习超,等. 小曲中优质产酯酵母分离鉴定及其产酯条件优化[J]. 食品与发酵工业,2018,44(2):62-67.

科　技　信　息

科学家发现手性分子不同对映体高效制备新途径

中科院上海有机化学研究所金属有机化学国家重点实验室研究员游书力团队,在研究铱络合物催化的不对称烯丙基取代反应时发现了一种独特的“反应时长依赖的对映发散性合成”现象:在不改变反应体系中手性源绝对构型的条件下,仅通过调节反应时长即可高对映选择性地分别获得目标产物分子的一对对映异构体。该现象的发现不仅丰富了不对称催化反应的内涵,更为手性分子不同对映体的高效制备提供了新的途径。该研究成果 6 月 29 日发表于《自然—化学》。

制备手性分子的一对对映异构体是不对称合成的基本任务,其对于药物化学和材料科学具有重要意义。在一般的不对称合成反应中可以通过改变手性源(如手性底物、辅基、试剂、催化剂/配体等)的绝对构型来获取产物的不同对映异构体。然而自然界中一些手性源分子仅以单一对映异构体的形式存在。因此难以通过这类手性源分子主导调控的不对称合成反应制备不同绝对构型的目标产物。

研究人员发现 6-羟基异喹啉与外消旋烯丙基碳酸酯在手性铱络合物催化下,可以在甲醇中发生不对称烯丙基取代反应,生成手性烯丙基胺衍生物。若控制反应时长为 10 h 则可以高对映纯度获得(R)构型目标产物;若将反应时长缩短至 6 min 则可以高对映纯度获得(S)构型目标产物。利用该类反应可在不改变手性催化剂绝对构型的情况下,仅通过调节反应时长,即可高对映选择性地制备在有机合成中具有重要应用价值的手性烯丙基胺类分子的不同对映异构体。

深入的机理研究表明在该反应条件下存在手性铱催化剂对烯丙基碳酸酯和烯丙基胺的两种动力学拆分作用。当两个动力学拆分体系的反应速率彼此匹配时,即可在不同的反应时长观察到绝对构型相反的烯丙基胺对映异构体的富集。打一个比方,反应时长依赖的对映发散性合成现象可以看成一场“龟兔赛跑”。生成(S)构型烯丙基胺的过程就像速度很快的兔子,虽然可以在很短的时间接近终点,但是不愿在终点停留,从另一条岔路离开了。生成(R)构型烯丙基胺的过程就像一只乌龟,虽然速度很慢,但是一直不放弃,因而总能在较长的时间到达终点。

相关论文信息:https://doi.org/10.1038/s41557-020-0489-1

[信息来源]中国科学报 黄辛. 科学家发现手性分子不同对映体高效制备新途径 [EB/OL]. (2020-07-5). http://paper.sciencenet.cn/htmlpaper/2020/7/20207523594273757398.shtm