

麦芽糖化工艺的优化及其对发酵的影响

梁若楠¹, 李洲², 何松贵³, 周世水^{1*} (1. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州 510006; 2. 广东金牌生物科技股份有限公司, 广东陆丰 516600; 3. 广东九江酒厂有限公司, 广东南海 528200)

摘要 [目的] 优化麦芽的糖化工艺条件, 探究麦芽的水解作用规律, 获得发酵优良的麦汁。[方法] 以还原糖、总糖、 α -氨基氮和可溶性蛋白质的含量为指标, 探究麦芽蛋白质休止温度、糖化的温度、时间、初始 pH 等工艺参数对麦芽淀粉和蛋白质水解的影响。[结果] 糖化温度是影响麦芽淀粉水解的主要因素; 蛋白质休止温度、时间及初始 pH 是影响麦芽蛋白质水解的主要因素。麦芽糖化工艺优化结果: 50 °C 蛋白质休止 1 h, 65 °C 糖化 40 min, 72 °C 糖化 20 min, 初始 pH 为 5.0。该工艺制备的麦汁 15 °C 发酵的酒精度达 6.2%, 实际发酵度达 75.3%。[结论] 该研究可为不同类型啤酒酿造制备特定的麦汁提供生产依据。

关键词 麦芽; 糖化工艺; 淀粉水解; 蛋白质水解

中图分类号 TS262.5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)26-0099-03

Study on Optimization of Malt Saccharification Process and Fermentation Effect

LIANG Ruo-nan¹, LI Zhou², HE Song-gui³, ZHOU Shi-shui^{1*} (1. School of Biology and Biological Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510006; 2. Guangdong Gold Medal Biotechnology Co., Ltd, Lufeng, Guangdong 516600; 3. Jiujiang Guangdong Distillery Co., Ltd., Nanhai, Guangdong 528200)

Abstract [Objective] To study the effects of different saccharification process on malt hydrolysis and in the meantime optimize the saccharification process and prepare good fermentation wort. [Method] Single factor experiment was conducted to evaluate the effects of malt amylolysis and proteolysis by measuring reducing sugar, total sugar, α -amino nitrogen and soluble proteins. Factors involved protein rest temperature, protein rest time, saccharification temperature, saccharification time and initial pH. [Result] The result confirmed that saccharification temperature is the critical factor of amylolysis while protein rest temperature, protein rest time, and initial pH significantly affect proteolysis of malt. The optimal saccharification process were as follow: Protein rest for 1 hour at 50 °C, saccharify for 40 min at 65 °C then for 20 min at 72 °C, initial pH 5.0. The wort produced under these conditions were fermented into alcohol, of which ethanol content reached to 6.2% and final real attenuation was 80.3%. [Conclusion] The research provides theoretical references for wort production according to different types of beers.

Key words Malt; Saccharification process; Amylolysis; Proteolysis

麦芽糖化是指通过各类水解酶的分解作用, 以及水和热力作用, 将原料麦芽和辅料中的不溶性内容物转化为溶解状态的过程^[1]。麦汁质量是保证啤酒酿造质量和啤酒品质的重要前提。现在啤酒个性化酿造盛行, 需要根据啤酒类型、风味、质量要求及成本生产相应的麦汁。因此, 探究麦芽糖化工艺对麦芽各组分溶出、水解的影响有助于个性化精酿啤酒更好地发展。

麦芽糖化时淀粉的溶出、水解效果决定原料的利用率和啤酒的发酵度, 影响啤酒的最终质量^[2]。蛋白质的溶出、水解效果对啤酒的正常酿造、泡持性及非生物稳定性影响巨大。蛋白质分解产物 α -氨基氮是啤酒酵母生长繁殖的氮源, 缺乏 α -氨基氮, 酵母增殖困难、发酵迟缓, 12°P 麦汁的 α -氨基氮含量应达到 240 mg/L^[1]。麦汁中可溶性蛋白质、肽类是影响啤酒风味和泡持性的重要物质, 赋予啤酒醇厚丰满的口感, 但过量会使啤酒的非生物稳定性变差^[1]。

目前对麦芽糖化工艺的报道主要集中在对单一或某两个指标的优化^[3-4], 系统的研究和分析较少, 精酿型啤酒酿造缺少参考价值。笔者以还原糖、总糖、 α -氨基氮和可溶性蛋白质为主要指标, 研究不同麦芽糖化工艺对麦汁淀粉糖化和蛋白质休止的影响, 探索两类物质水解规律, 为精酿啤酒酿造提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料。 麦芽, 广州麦芽有限公司; 啤酒酵母, 华南理工大学发酵工程实验室保藏。

1.1.2 主要仪器。 YQ-PJ-6B 型自动糖化仪, 轻工业部西安轻机所光电公司; UV-2700 紫外可见分光光度计, 岛津仪器(苏州)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 麦汁制备方法。 麦芽粉碎 → 加 400% 的水 → 蛋白质休止 55 °C, 60 min → 糖化 I 65 °C, 60 min → 糖化 II 72 °C, 20 min → 过滤 → 煮沸 60 min → 冷却沉淀 → 过滤 → 定型麦汁 → 成分分析。

1.2.2 麦芽糖化影响因素的试验。

1.2.2.1 蛋白质休止温度对麦芽糖化的影响。 分别选取蛋白质休止温度 44、47、50、53、56 °C 进行麦芽糖化, 测定麦汁中还原糖、总糖、 α -氨基氮和可溶性蛋白质 4 个主成分的含量。

1.2.2.2 蛋白质休止时间对麦芽糖化的影响。 蛋白质休止温度 50 °C, 分别选取蛋白质休止时间 20、40、60、80、100、120 min 进行麦芽糖化, 测定麦汁中 4 个主成分的含量。

1.2.2.3 糖化温度对麦芽糖化的影响。 蛋白质休止 50 °C、60 min, 分别选取糖化 I 温度 63、65、68 °C 进行麦芽糖化, 测定麦汁中 4 个主成分的含量。

1.2.2.4 糖化时间对麦芽糖化的影响。 蛋白质休止 50 °C、60 min, 糖化 I 温度 65 °C, 糖化 II 72 °C, 20 min, 分别选取糖化 I 时间 20、40、60、80、100 min 进行麦芽糖化, 测定麦汁中 4

作者简介 梁若楠(1993—), 女, 广东广州人, 硕士研究生, 研究方向: 啤酒酿造。* 通讯作者, 副教授, 博士, 从事发酵工程与酿酒研究。

收稿日期 2017-07-07

个主成分的含量。

1.2.2.5 初始 pH 对麦芽糖化的影响。蛋白质休止 50 ℃、60 min,糖化 I 65 ℃、40 min,糖化 II 72 ℃、20 min。分别选取初始 pH 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5 进行麦芽糖化(利用乳酸调 pH),测定麦汁中 4 个主成分的含量。

1.2.3 麦汁发酵试验。将 100 mL 定型麦汁接种 2.0×10^7 CFU/mL 啤酒酵母,15 ℃ 主发酵 7 d,4 ℃ 后发酵 7 d 后测定啤酒残糖、实际发酵度和酒精度。

1.2.4 分析方法。还原糖、总糖测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[5-6];α-氨基氮测定采用茚三酮比色法^[7];可溶性蛋白质测定采用考马斯亮蓝法^[8];酒精度、原麦汁浓度、残糖及实际发酵度按国家标准啤酒分析方法测定^[9]。

2 结果与分析

2.1 蛋白质休止温度对麦芽糖化的影响 按照方法“1.2.2.1”进行麦芽糖化,研究蛋白质休止温度对麦芽水解的影响,结果见图 1、图 2。

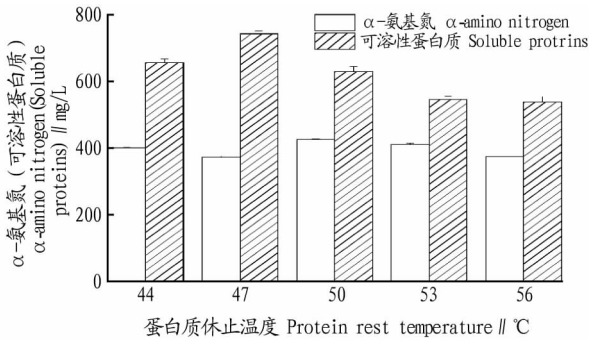


图 1 蛋白质休止温度对麦汁 α-氨基氮及可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 1 Effect of protein rest temperature on wort α-amino nitrogen and soluble proteins

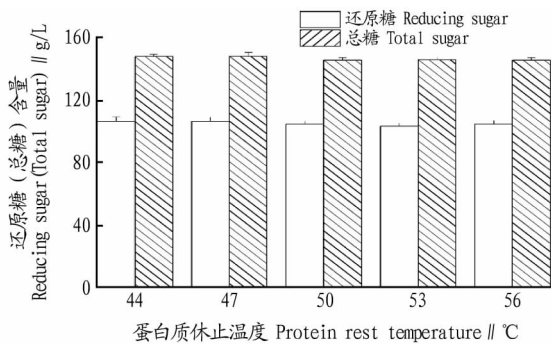


图 2 蛋白质休止温度对麦汁还原糖及总糖含量的影响

Fig. 2 Effect of protein rest temperature on wort reducing sugar and total sugar

从图 1、图 2 可知,蛋白质休止温度的改变对麦汁还原糖和总糖含量影响不显著,但对麦芽蛋白质水解影响显著。在蛋白质休止温度 50 ℃ 时,制备麦汁 α-氨基氮含量最高,达到 425.9 mg/L;47 ℃ 时可溶性蛋白质含量最高,达到 743.2 mg/L,且随着温度升高,可溶性蛋白质含量持续降低。综合确定 50 ℃ 为蛋白质休止温度。

2.2 蛋白质休止时间对麦芽糖化的影响 按照方法

“1.2.2.2”进行麦芽糖化,研究蛋白质休止时间对麦芽水解的影响,结果见图 3、图 4。

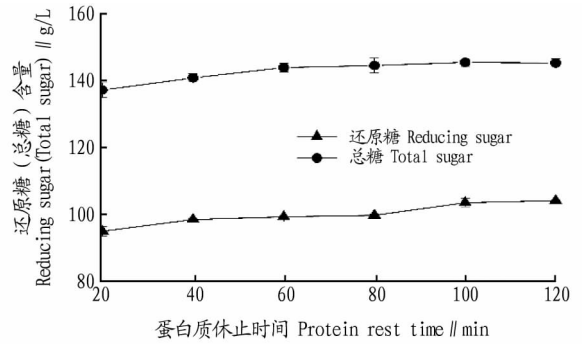


图 3 蛋白质休止时间对麦汁还原糖及总糖含量的影响

Fig. 3 Effect of protein rest time on wort reducing sugar and total sugar

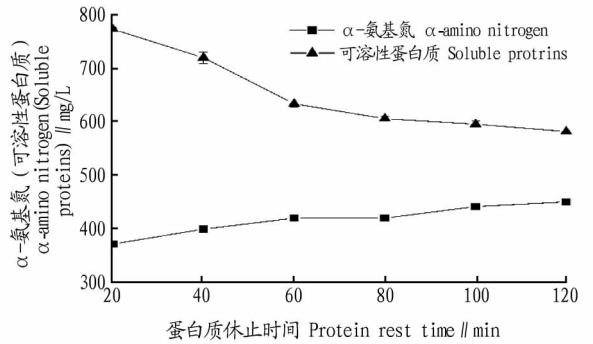


图 4 蛋白质休止时间对麦汁 α-氨基氮及可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 4 Effect of protein rest time on wort α-amino nitrogen and soluble proteins

从图 3 可知,蛋白质休止时间对麦芽淀粉水解影响较小,且蛋白质休止 60 min 后的淀粉溶出和水解已基本充分。从图 4 可知,蛋白质休止时间对麦芽蛋白质水解影响显著,并随着时间的延长,麦汁 α-氨基氮含量不断增多,从 371.7 mg/L 增加到 450.5 mg/L,而可溶性蛋白质含量不断减少,从 773.3 mg/L 减少到 582.1 mg/L。60 min 后可溶性蛋白质降低速率和 α-氨基氮增长速率均显著减小,综合确定蛋白质休止 50 ℃、60 min。

2.3 糖化温度对麦芽糖化的影响 按照方法“1.2.2.3”进行麦芽糖化,研究糖化温度对麦芽水解的影响,结果见图 5、图 6。

由图 5 可知,糖化温度对麦芽淀粉水解影响显著,其中 65 ℃ 以上有利于麦芽淀粉的充分水解,采用 65 ~ 72 ℃ 两段式或 68 ℃ 一段式糖化,最有利于淀粉溶出水解,可得到最高还原糖 ≥ 103.1 g/L。

由图 6 可知,随着糖化 I 的温度升高,麦汁中可溶性蛋白质显著增多,而 α-氨基氮变化不显著,这说明温度升高利于蛋白质水解。再经糖化 II 的麦汁中可溶性蛋白质显著下降,可能是 72 ℃ 高温下生成的蛋白质分解产物不稳定,在煮沸时更易絮凝析出。因此,确定 65 ~ 72 ℃ 的两段式糖化工艺,既保证麦汁 α-氨基氮含量在 420 mg/L 以上,又有利

于减少影响非生物稳定性的可溶性蛋白质含量,维持啤酒的澄清。

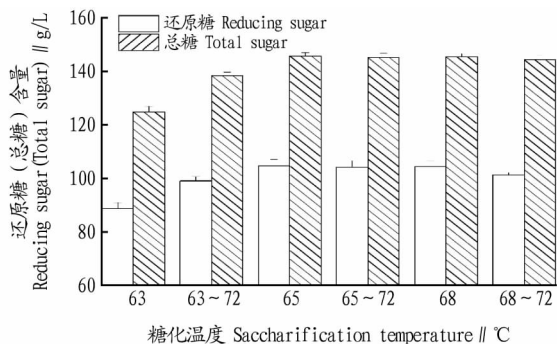


图5 糖化(I~II)温度对麦汁还原糖及总糖含量的影响

Fig. 5 Effect of saccharification (I - II) temperature on wort reducing sugar and total sugar

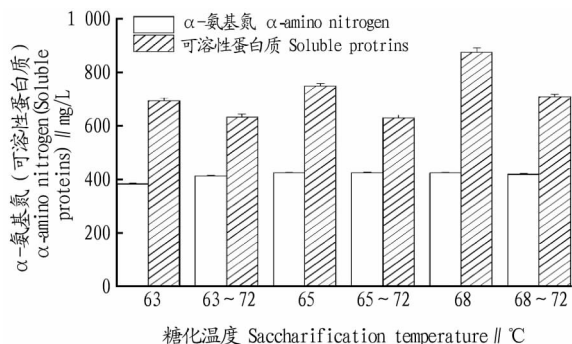


图6 糖化(I~II)温度对麦汁α-氨基氮及可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 6 Effect of saccharification (I - II) temperature on wort α-amino nitrogen and soluble proteins

2.4 糖化时间对麦芽糖化的影响 按照方法“1.2.2.4”进行麦芽糖化,研究糖化时间对麦芽水解的影响,结果见图7、图8。

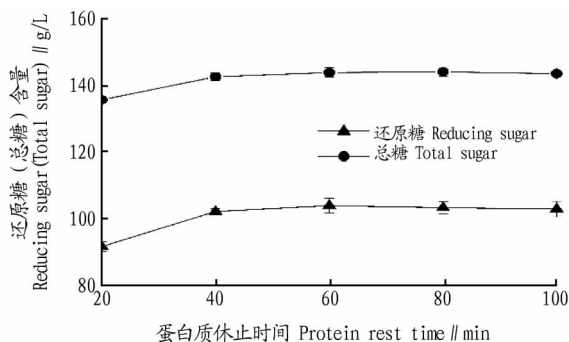


图7 糖化I时间对麦汁还原糖及总糖含量的影响

Fig. 7 Effect of saccharification I time on wort reducing sugar and total sugar

从图7、图8可知,糖化I时间40 min后,麦汁中还原糖、总糖和α-氨基氮含量趋于平稳,而可溶性蛋白质含量缓慢下降。因此,确定糖化I的时间为40 min,保证还原糖在103 g/L以上,α-氨基氮在420 mg/L以上。

2.5 初始pH对麦芽糖化和啤酒发酵的影响 按照方法“1.2.2.5”进行麦芽糖化,研究初始pH对麦芽水解的影响,

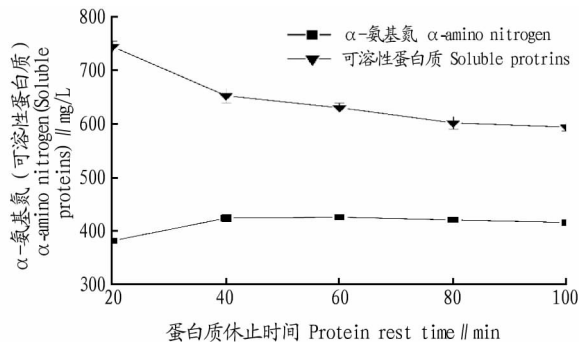


图8 糖化I时间对麦汁α-氨基氮及高分子蛋白质含量的影响

Fig. 8 Effect of saccharification I time on wort α-amino nitrogen and soluble proteins

结果见图9、图10。

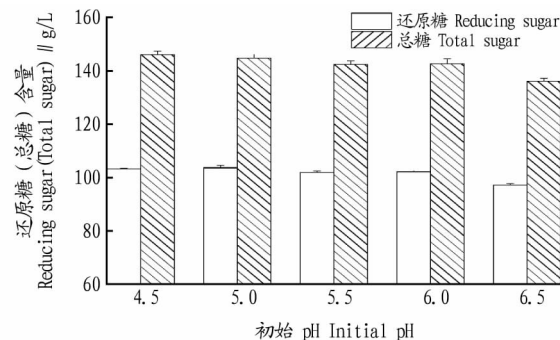


图9 初始pH对麦汁还原糖及总糖含量的影响

Fig. 9 Effect of initial pH on wort reducing sugar and total sugar

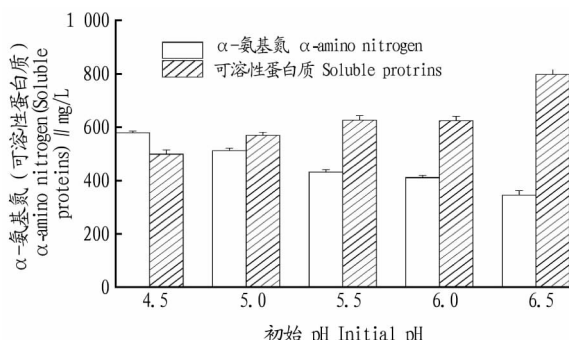


图10 初始pH对麦汁α-氨基氮及可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 10 Effect of initial pH on α-amino nitrogen and soluble proteins

由图9可知,初始pH在4.5~6.0对麦汁还原糖和总糖含量影响不大,pH达到6.5时,麦汁还原糖和总糖含量显著下降,表明淀粉水解酶活性受影响。

由图10可知,初始pH对麦芽蛋白质水解有显著影响。随着初始pH降低麦汁可溶性蛋白质含量减小,α-氨基氮含量增大,这表明酸性条件有利于蛋白质水解。初始pH 4.5时的α-氨基氮含量比自然正常pH 6.0的提高40.9%,达到580.6 mg/L。

对优化麦芽糖化工艺基础上制备的麦汁,接种 2×10^7 CFU/mL啤酒酵母进行15 °C、7 d主发酵和4 °C、7 d后发酵,试验结果见表2。

$$u(x_i) = \frac{s}{\sqrt{n}} = 0.064\ 95$$

测定结果的相对标准不确定度为:

$$u(x) = u(x_i)/47.25 = 0.001\ 375$$

4.5 不确定度分量计算 不确定度分量计算结果见表4。

表4 不确定度分量

Table 4 The uncertainty component

参数 Parameters	X	u(X)	u(X)/X
rep	1	0.183 7	0.001 375
m	0.503 2	5.774×10^{-5}	0.000 114 7
V - V ₀	27.22	0.059 28	0.002 178
C _{HCl}	0.100 2	0.000 159 8	0.001 6

4.5.1 相对合成标准不确定度。

$$U_{rel} = \sqrt{0.001\ 375^2 + 0.000\ 114\ 7^2 + 0.002\ 178^2 + 0.001\ 6^2} = 0.003\ 034$$

合成标准不确定度:

$$U_c = U_{rel} \times w = 0.003\ 034 \times 47.25\% = 0.143\ 4\%$$

4.5.2 扩展不确定度。测量结果的扩展不确定度,取K=2(95%置信概率),则表述扩展不确定度为:

$$U = K \times U_c = 2 \times 0.143\ 4\% = 0.29\%$$

4.5.3 不确定度判定。豆粕中粗蛋白含量(采用国标 GB/T 6432—1994),其测试结果为47.25%,其扩展不确定度为:

$$U = 0.29\%, K = 2$$

(上接第101页)

表2 麦芽糖化不同初始pH对啤酒发酵的影响

Table 2 Effect of saccharification initial pH on alcohol fermentation

初始 pH Initial pH	原麦汁浓度 Wort concentration °P	残糖 Final real extract °P	实际发酵度 Real attenuation %	酒精度 Ethanol content %
4.5	16.5	6.4	61.2	5.0
5.0	16.2	4.0	75.3	6.2
5.5	16.0	4.0	75.0	5.9
6.0	16.0	4.2	73.7	5.6
6.5	15.5	5.4	65.2	4.5

由表2可知,随着初始pH降低,原麦汁浓度有所增加,发酵液残糖先减少后增加,实际发酵度和酒精度先升高后降低。当pH 5.0时,发酵液实际发酵度和酒精度均达到最高值,分别为75.3%和6.2%,比正常pH发酵液的实际发酵度提高了1.6%,酒精度提高了10.7%,效果显著。这表明适当降低麦芽水解初始酸度能够有效提高制备麦汁的发酵效果。

3 结论与讨论

该研究通过单因素试验优化得出麦芽糖化工艺:50℃蛋白质休止60 min,65℃糖化40 min,72℃糖化20 min,初始pH 5.0。制备麦汁中含还原糖103.7 g/L、总糖144.6 g/L、α-氨基氮514.0 mg/L、可溶性蛋白质571.4 mg/L。经发酵

5 结语

建立数学等式,计算系统因素和随机因素和带入的测量不确定度分量,找出豆粕粗蛋白测定的不确定度分量主要来源于4个分量:包括重复性测量的A类评定、天平称重、消耗标准溶液的体积和标准溶液浓度的B类评定,通过数值大小比较得出标准溶液浓度影响最大,分量滴定标准溶液体积次之。因此,在标定盐酸标准溶液时,称量基准工作试剂的质量小于等于0.5 g时,要用十万分之一分析天平,需2人进行试验,每人分别做4个平行,其标定结果的相对极差不得大于相对重复性临界极差,8个平行标定结果的相对极差不得大于相对重复性临界极差。盐酸标准滴定溶液的温度不是20℃时,应对标准滴定溶液体积进行修正。在实际工作中,要注意以上关键操作点,降低检测过程中产生的不确定度值。

参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南: CNAS—GL06,2006[S]. 北京:中国计量出版社,2006.
- [2] 全国饲料工业标准化技术委员会. 饲料中粗蛋白测定方法: GB/T 6432—1994[S]. 北京:中国标准出版社,1994.
- [3] 江苏省计量科学研究院,中国计量科学研究院,北京理工大学,等. 测量不确定度评定与表示: JJF 1059.1—2012[S]. 北京:中国标准出版社,2013.
- [4] 罗卓雅. 食品药品检测测量不确定度评定实例[M]. 北京:中国质检出版社,2015.
- [5] 耿维明. 测量误差与不确定度评定[M]. 2版. 北京:中国计量出版社,2015.
- [6] 郝玉林. 化学分析测量不确定度评定应用实例[M]. 北京:中国标准出版社,2011.

后得到酒精度6.2%、实际发酵度达75.3%的酒。

糖化温度是影响麦芽淀粉水解的主要因素,蛋白质休止温度、时间、pH是影响麦芽蛋白质水解的主要因素。降低pH到5.0有利于蛋白质分解为α-氨基氮,为啤酒酵母发酵提供充足氮源而提高啤酒发酵度和酒精度,特别适合添加了大米、淀粉、糖浆等辅料造成α-氨基氮降低的啤酒酿造。

参考文献

- [1] 顾国贤. 酿造酒工艺学[M]. 2版. 北京:中国轻工业出版社,2005: 110—121.
- [2] 刘秀华,满娟娟,李宏军. 小麦啤酒糖化工艺优化[J]. 安徽农业科学,2012,40(13):7898—7900,7904.
- [3] 唐浩国,肖枫,王冠宇,等. 啤酒麦芽汁的制备研究[J]. 食品科学,2008,29(9):139—142.
- [4] 闫素娟,李红,贾士儒. 提高麦汁发酵度的糖化工艺优化分析[J]. 酿酒科技,2015(4):20—22,27.
- [5] 李谦,秦礼康,夏辅蔚,等. 酿造苦荞酱油用糖浆的液化和糖化工艺优化[J]. 食品与发酵工业,2015,41(1):162—168.
- [6] 贾玉平. 水解条件对食品总糖测定的影响[J]. 大众标准化,2007(S2): 81—82.
- [7] 管敦仪. 啤酒工业手册:中册[M]. 北京:中国轻工业出版社,1982:190—216.
- [8] 李志江. 考马斯亮蓝 G250 染色法测定啤酒中蛋白质含量[J]. 酿酒,2008,35(1):70—72.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 啤酒分析方法: GB/T 4928—2008[S]. 北京:中国标准出版社,2008.