

啤酒酵母自溶的危害及其影响因素

牛建兴,王嘉林

(青岛科技大学化工学院生物工程系,山东 青岛 266042)

摘要: 酵母是啤酒发酵的灵魂,因此酵母的好坏对啤酒发酵起到至关重要的作用。酵母自溶是酵母死亡后,胞内物质释放的过程。啤酒发酵过程中酵母发生自溶是不可避免的。从细胞、非生物因素、生物因素 3 个角度论述了影响酵母自溶的因素。

关键词: 酵母自溶; 细胞; 非生物因素; 生物因素

中图分类号:TS261.1;TS262.5;Q93-3

文献标识码:A

文章编号:1001-9286(2011)12-0073-03

The Hazards and Influencing Factors of Beer Barm Autolysis

NIU Jianxing and WANG Jialin

(Bioengineering Department of Chemical Engineering College of Qingdao Science & Technology University, Qingdao, Shandong 266042, China)

Abstract: Beer barm is the soul for beer fermentation and barm quality plays vital important roles in beer fermentation. Barm autolysis refers to the process of the release of intracellular substances after the death of barm cells. Barm autolysis is inevitable in beer fermentation. In this paper, the factors influencing barm autolysis were discussed from the angle of cells, non-biological factors, and biological factors.

Key words: barm autolysis; cell; non-biological factors; biological factors

酵母自溶在啤酒发酵中是一个不可避免的现象,但是通过对其发生自溶的影响因素进行研究有利于指导工业生产,避免很多因酵母自溶而引起的啤酒生产周期或质量问题,如酵母自溶导致酵母絮凝过早而使得发酵周期延长。酵母自溶程度超过 5% 就可以引起酒体呈酵母味^[1],容易引起酒体变酸,影响酒体过滤等等。

1 酵母自溶的概念和机理

1.1 概念

酵母自溶是酵母细胞在特定条件下,经蛋白酶等酶类将细胞自身结构进行降解从而释放胞内物质的过程。

1.2 机理

酵母是单细胞真核生物,细胞外层是细胞壁和细胞膜 2 层,而内层是由细胞质包围的许多细胞器。细胞器的合作会产生许多蛋白酶,而蛋白酶正是引起酵母自溶的关键物质,当然也有一些糖类酶、核酸酶和脂类酶发生着一定作用。在正常条件下,酵母强壮,蛋白酶不会跟细胞内自身物质发生反应,不会发生细胞自溶;而当工艺条件和生存条件恶化时,酵母衰老受到各种物理化学作用的影响,蛋白酶开始降解胞内自身物质,导致酵母细胞破裂

而引起自溶,细胞内的许多物质便会外泄,溶入酒体中,从而对啤酒风味造成影响。而蛋白酶自身在胞外也会被降解。

2 酵母自溶对啤酒风味的影响

2.1 产生“酵母味”

啤酒中葵酸乙酯的阈值是 1.5 mg/L^[2],一般啤酒中其含量为 0.07~1.1 mg/L。酵母味的产生正是由于酵母自溶,胞内葵酸乙酯释放到啤酒中,使其含量超过阈值所致。当然,酵母味的产生并不是葵酸乙酯单一物质所带来的结果,而是很多溶出物的混合味,可破坏啤酒的稳定性。一旦有杂菌的侵入污染,可能导致臭味。

2.2 影响啤酒胶体的稳定性

啤酒是一种介于半透明和透明之间的胶体,稳定性一般。当酵母发生自溶时,会释放出大、中、小分子蛋白质,某些大分子蛋白质在过滤时难以被过滤掉,使啤酒浊度升高,导致失光。蛋白质会发生絮凝沉淀,从而影响啤酒胶体稳定性。

酵母自溶过程中会溶出很多碱性物质,使 pH 值升高,导致胶体稳定性变差。

收稿日期:2011-10-10

作者简介:牛建兴,男,山东潍坊人,在读研究生。

通讯作者:王嘉林,教授,博士。

优先数字出版时间 2011-11-16;地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20111116.1508.001.html>。

2.3 使啤酒发生沉淀

酵母自溶后,体内释放出很大部分的碱性蛋白质。这些碱性蛋白质的絮凝型比一般蛋白质强很多,在变性和高温条件下会发生凝效应,这种反应不同于一般蛋白质跟多酚的结合^[3],是直接的蛋白质絮凝沉淀。这些变性絮凝的蛋白质会吸附到其他蛋白质分子上,产生大颗粒的沉淀,可以从瓶装啤酒中明显看到。

2.4 造成双乙酰的反弹

双乙酰是控制啤酒风味最关键的物质。啤酒中双乙酰的阈值为 0.15 mg/L^[4],如果含量过高,会产生令人讨厌的“馊饭味”。当酵母发生自溶时,细胞内的双乙酰和前体物质 α -乙酰乳酸会释放到啤酒中,导致啤酒中双乙酰含量升高。

2.5 影响啤酒的酸度

酵母发生自溶后,会释放出酸性核酸类物质和两性蛋白质类物质。前者直接增加了啤酒的酸度,后者在酸碱滴定时会与 NaOH 发生反应,从而导致在计算酸含量时数据较实际值有所增加。

虽然氨基酸、蛋白质等电点较高,导致啤酒 pH 值升高,但啤酒具有较强的缓冲能力,pH 值变化并不大,所以不成线性关系^[5]。

2.6 影响啤酒的泡持性

酵母自溶后会有大量的游离脂肪酸进入啤酒,CO₂ 的溶解减少,不利于啤酒泡沫的形成。蛋白质是啤酒起泡的关键物质^[6-7],高分子蛋白含量越多,起泡效果越好。当酵母自溶,使得其中大量蛋白酶释放出来,能够溶解啤酒中的起泡蛋白,降低泡持性。

2.7 提高了啤酒的老化机率

醛类物质是啤酒老化味的基础。当酵母发生自溶时,细胞中的醛类物质进入啤酒中,导致老化味加重。另外氨基酸可以发生降解产生醛类,使醛类增加,当然还有其他代谢途径也能产生醛类。

3 影响酵母自溶的因素

3.1 从细胞角度看酵母自溶

3.1.1 细胞壁与酵母自溶的关系^[8]

酵母自溶的发生跟其细胞壁有着直接联系:细胞壁上含有葡聚糖和甘露糖等成分,而在检测细胞自溶液时,可以发现葡聚糖和甘露糖发生了水解,导致细胞壁结构的破坏,从而使酵母自溶速度加快。

从国内外研究进展看,目前解决这一问题的办法是从基因水平上切除葡聚糖酶的合成基因,诱导补偿途径来表达葡聚糖,从而减少葡聚糖的表达量,减轻酵母的自溶程度。另外,也有同样从基因角度研究甘露糖的相

关报道。

3.1.2 细胞膜跟酵母自溶的关系^[9]

酵母中的各种酶类很多都位于细胞膜上,蛋白酶也是如此。当酵母发生老化或者生存条件恶化时,分解自身蛋白的蛋白酶源被激活,从而分解自身蛋白质,导致膜结构发生变化,通透性增强,加速了细胞自溶的进程。

3.2 从非生物因素角度看酵母自溶

3.2.1 麦汁

众所周知,麦汁中含有酵母发酵所需的几乎所有营养物质,如 α -氨基氮、无机盐、生长素、葡萄糖、氨基酸等。麦汁可以直接用做培养基,因此,麦汁质量的好坏直接影响到酵母的生长繁殖。如果麦汁营养匮乏或是营养成分组成比例不合理,都可能引起酵母代谢缓慢,衰老加快,从而引起酵母自溶。

3.2.2 无机离子

麦汁中 Zn²⁺ 的含量不得小于 0.25 mg/L,但是不要超过 2 mg/L。如果 Zn²⁺ 含量不足,乙醇脱氢酶等胞内酶活力明显下降,引起酵母增殖缓慢、发酵速度减慢;如果 Zn²⁺ 浓度过高,可以促进酵母的生长代谢,但是酵母极易衰老、自溶。发酵中要适当增加镁的浓度,促进酵母细胞中腺苷三磷酸酶的活性,然而过高 Ca²⁺ 离子和低 Mg²⁺:Ca²⁺ 比率都会影响氨基苯甲酸进而影响酵母生产。麦汁中铁离子含量高于 1.0 mg/L 时^[10],也会使酵母早衰,增加死亡及自溶的概率。因此,无机离子对酵母自溶有很大的影响。

3.2.3 温度

啤酒正常发酵温度一般在 10.5 °C 左右,整个啤酒酿造过程中不应该出现高于 13 °C 的情况,而酵母的最适自溶温度为 54 °C^[11]。一般情况下是达不到的,但是经过实验分析,温度和酵母自溶的关系如图 1 所示。

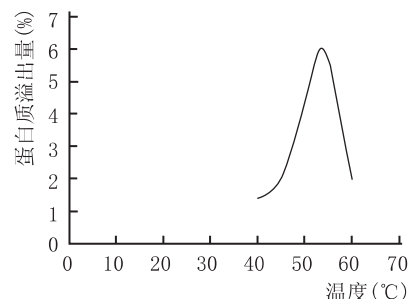


图1 温度与蛋白质溢出的关系

根据图中蛋白质溢出量变化可间接得知酵母自溶程度在温度 54 °C 左右时会达到最大。因此,在工业生产中对温度要实时监控,温度一旦失控,则引起酵母自溶,导致啤酒发酵失败。

3.2.4 pH 值

啤酒正常发酵的 pH 值一般控制在 5~6 之间^[12],pH 值太低说明发酵过度,酒液已酸,pH 值太高说明可能染上了杂菌。酵母发生自溶时会导致蛋白质从胞中溶出,因此可以通过测定不同 pH 值下蛋白质含量来确定酵母自溶的最适 pH 值,以便于工业生产应用。

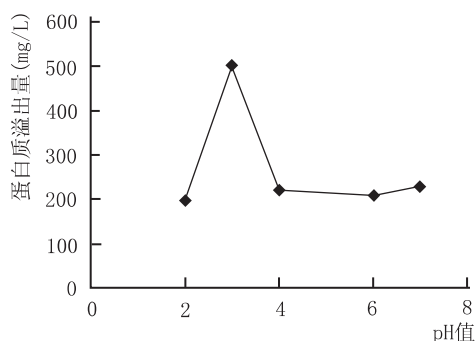


图 2 pH 值变化与蛋白质溢出量之间的关系

从图 2 中可以看出,在 pH 值为 3 时,蛋白质溢出量最大,即蛋白质自溶程度最高。

3.2.5 压力

啤酒发酵过程中,酵母无论有氧呼吸还是无氧呼吸,分解糖类时都会产生 CO_2 形成压力,同时有时为保持一定气压而充入 CO_2 形成压力。切忌封罐时压力过大,容易造成酵母细胞壁因压力破壁而导致酵母发生自溶,且易造成酵母过早絮凝,对发酵过程不利。

3.3 从生物因素角度看酵母自溶

3.3.1 酵母菌种

不同的酵母菌种对自溶的稳定性有很大差异。酵母是单细胞真核生物,在一定条件下可以发生变异,因此可以选育发酵过程中低自溶程度的菌种。工业上的菌种大部分都是经过诱变选育而得,不是直接从环境中提取的。

3.3.2 酵母的使用代数

酵母是群体使用,由于生存条件差异,不同酵母生长状况不同,但是随着使用次数的增加,酵母老化程度增加是确定的。如果使用代数太高的酵母,衰老、死亡的酵母菌会直接进入下一批发酵罐,会加速其他酵母的老化,导致酵母自溶速度加快。一般工业用菌只使用前 5 代酵母泥^[13]。

3.3.3 酵母的添加和使用

添加酵母首先要确保酵母的使用代数不能太高,使用代数过高,酵母泥中衰老、死亡的酵母菌含量高,如果带入下一代麦芽汁中,酵母生长不佳,则易出现酵母自溶现象。其次是酵母的添加量要适中,添加量过多,会造成新增酵母数量少,且后期营养缺乏,造成酵母衰老;酵母添加量过少,则发酵慢,而且易染杂菌,造成发酵失败。工

业生产中,酵母量的标准是满灌后的酵母镜检数,为 $1.0 \times 10^7 \sim 1.5 \times 10^7$ 个/mL^[14]。

3.3.4 发酵工艺条件的影响

发酵工艺过程中对酵母自溶产生影响的主要因素有温度、压力、无菌环境、罐体是否洁净等。发酵最适温度在 10°C 左右,虽然适当提高温度能够加快发酵,但是也易使得细胞代谢过快,提早进入衰老期,加快酵母自溶速率。压力过大的话,可能导致细胞壁或细胞膜发生破裂,使细胞死亡。刷罐不干净,留有残余的碱,可能会杀死酵母,加快细胞自溶。

3.3.5 酵母回收

酵母回收的时间、压力、洗涤都是比较关键的因素。酵母在发酵罐中不能储存太长时间,一般发酵罐降温后,酵母会絮凝下来,这时候就可以回收酵母泥了。酵母泥与啤酒接触时间越长,酵母越容易发生自溶。回收时压力差不能太大,否则会使细胞破裂导致酵母死亡。回收时的洗涤也是非常关键的环节,如水的组成、水温等都会影响酵母自溶。

3.3.6 酶制剂

在工业上,为节省生产成本而添加辅料;为提高生产效率而添加外源酶成为了必不可少的环节,但是酶制剂对酵母自溶是有影响的^[15]。酵母自溶是一个内源酶降解细胞膜,然后释放内源酶的过程。在酵母细胞壁发生破碎后,添加的外源蛋白酶和内源酶可以同时作用于细胞膜,从而导致细胞自溶。

3.3.7 杂菌

工业生产中最忌的就是染上杂菌,染菌的危害可谓巨大,不仅可能影响一个罐,一批,甚至可能导致整个发酵室都染菌。且染菌后,还原原来的无菌空间比较麻烦,对企业可能造成不可估量的损失。

杂菌对于酵母自溶的影响主要在于:不同菌种的代谢不同,生成不同的代谢物,可影响到发酵液的 pH 值,并且影响发酵液的组成。同时,杂菌溶解也会有自溶物流出,蛋白酶同样会作用于酵母菌细胞膜结构,从而引起酵母自溶。另外,杂菌易引起酵母菌的死亡,从而引起酵母自溶。

参考文献:

- [1] 郝秋娟,李琦,顾国贤.啤酒酵母的自溶及对啤酒质量的影响[J].啤酒科技,2005(1):33-34.
- [2] 崔进梅,任永新.啤酒酵母自溶及防治措施的探讨[J].啤酒科技,2006(3):30-32.
- [3] 刘秉和,王燕春.啤酒酵母自溶的危害和防止[J].酿酒科技,1999(4):47-48.
- [4] 王传荣.控制啤酒中双乙酰含量措施的探讨与研究[J].食品工

(下转第 78 页)

异常的准则:点出界,界内点排列不随机,如点在上、下警戒限之间区域内,则测定过程处于控制状态,样品检测结果有效,但临界值样品和超标样品需要重新测定;如果点超出上、下警戒限,但仍在上下控制限之间的区域内,提示检测质量开始变劣,存在“失控”倾向,应进行初步检查,并采取相应的调整措施。例如:图 1 中,2010 年 9 月 26 日,锰质控样的测定结果超出上警戒限但未超过上控制限,经核实,不同厂家生产的硝酸是有差异的,当天配制标准系列溶液的硝酸和配制质控样的硝酸不是同一厂家的硝酸,而配制质控样的硝酸空白值偏高,测定过程没有重新测定质控样的硝酸空白,未扣除空白值而导致质控样测定结果偏大。查明原因后,检测部立即制订了纠正措施,即测定质控样品前要测定基体空白,防止引入误差。为防止这种情况再次发生,质量部又制订了预防措施,即新购买的不同厂家或不同批号的硝酸必须进行空白值验证后方可使用。若点落在上、下控制限之外,表示测定过程“失控”,应立即检查原因,予以纠正,样品应重新测定。如 7 点连续上升或下降时(虽然数值在控制范围之内),表示测定有失去控制的倾向,应立即查明原因,予以纠正。即使过程处于控制状态,尚可相邻几次测定值的分布趋势,对检测质量可能发生的问题进行初步判断。当质控样测定次数累积更多以后,这些结果可以和原始结果一起重新计算总均值、标准偏差,再校正原来的控

制图。

控制图是在稳定状态条件下绘制,并非一成不变,如出现操作人员更换或通过培训使操作水平有所提高,设备更新,改变方法参数或采用新标准,环境改变等情况,控制图也必须重新绘制。由于控制图是科学管理检测过程的重要依据,所以经过相当时间的使用后,应重新抽取数据进行计算和验证。控制图根据实际情况进行动态更新,才能更真实地反映检测体系的趋势变化,并有效地监控测量系统是否持续受控。

5 结束语

检测过程是实验室质量体系运行的主要过程,质量控制应建立在统计技术的基础上,利用统计分析手段实现实验室测量过程的质量控制。通过建立实验室质控样锰浓度均值-标准偏差质量控制图,为实验室质量管理和控制提供科学依据。对于预防和纠正差错,确保检测结果准确可靠,使测量过程持续保持在准确度受控的规定范围内,质控图发挥了重要作用。

参考文献:

- [1] 国家认证认可监督管理委员会.实验室资质认定工作指南[M].第 2 版.北京:中国计量社,2010:45-47.
- [2] 张辽生,于红,何天亮.质控图在食品中铅的测定应用[J].现代测量与实验管理,2011(1):32-33.
- [3] GB/T 5009.90—2003.食品中铁、镁、锰的测定[S].
- [10] 方尚玲,马丽,吴思方.影响酵母自溶的因素和条件的研究[J].粮食与饲料工业,2000(3):50-52.
- [11] 孙向军,姚晓敏,张伟.酵母细胞自溶条件的研究[J].上海农学院学报,2000,18(1):37-39.
- [12] 汤务霞.啤酒废酵母自溶条件的研究[J].食品工业,2006(5):13-16.
- [13] 徐亚杰,蒋海波.酵母自溶原因及防控措施[J].酿酒,2010,37(4):52-54.
- [14] 李祥,彭莉,王毅,薛养龙.酵母自溶研究[J].中国酿造,2001(6):67-69.
- [15] 陶兴无.外加酶制剂提高内容抽提物得率的研究[J].中国酿造,2004(5):22-25.

(上接第 75 页)

业科技,2008(10):275-278.

- [5] 王志坚.酵母自溶的成因及其对啤酒质量的影响[J].酿酒科技,2003(6):58-61.
- [6] 张娜.成品酒泡持性的影响因素[J].啤酒科技,2009(12):51-54.
- [7] 张吉磊,郑飞云,郝俊光,李琦.啤酒中异- α 酸和蛋白质含量对啤酒泡持性的影响[J].食品与生物技术学报,2010,29(6):905-910.
- [8] 王敏,李琦,顾国贤.啤酒酵母自溶与细胞壁的关系[J].生命的化学,2008(4):504-506.
- [9] 梁刚,许瑶.啤酒酵母的自溶现象及其防治措施[J].酿酒科技,1998(6):21-22.

意大利葡萄酒对中国出口显著上升

本刊讯 据《华夏酒报》报道,近年来,我国对葡萄酒需求持续上升,已经成为国外葡萄酒的主要输出市场。海关数字显示统计,今年上半年,我国从五大葡萄酒进口国——法国、澳大利亚、意大利、美国、西班牙的进口量分别为 49820 千升、13520 千升、8590 千升、5940 千升和 7720 千升,同比分别增长 71%、22%、79%、22%和 89%。

据意大利全国农业种植业者协会(Coldiretti)统计,2010 年,意大利葡萄酒产量为 496 万千升,超越法国成为全球最大葡萄酒生产国。其葡萄酒出口总额达 39.3 亿欧元,创历史新高记录,其中对中国出口增长了 1.46 倍。意大利全国酿酒师协会(Assoenologi)的数字显示,今年一季度,在国外市场需求增长的带动下,意大利葡萄酒出口继续保持迅猛增长,出口量同比增长 13.9%,出口额增长 14.5%。(徐菲远文,小小荐)

来源:华夏酒报 2011-11-25