

啤酒酿造过程中有机酸的研究

向 阳,李 崎,顾国贤

(江南大学教育部工业生物技术重点实验室,江苏 无锡 214036)

摘 要: 研究不同的糖化工艺对麦汁中有机酸含量的影响。通过改变原料状况(不同的辅料比、粉碎度)、糖化水 pH、糖化温度、糖化时间等工艺参数,发现麦汁中的有机酸主要来自麦芽呼吸产生的酸,糖化过程中的酶解作用几乎不产生有机酸,且麦芽原始酸和总有机酸含量之间具有较好的线性关系($R^2=0.943$)。麦汁煮沸时添加酒花和钙离子,可以使麦汁中的有机酸含量下降 10%。

关键词: 啤酒酿造; 有机酸; 糖化工艺; 麦汁

中图分类号:TS262.5;TS261.4 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2005)10-0051-04

Study on Organic Acids in Beer Brewing

XIANG Yang, LI Qi and GU Guo-xian

(Industry Biotech Key Lab of Education Ministry, Southern Yangtze University, Wuxi, Jiangsu 214036, China)

Abstract: The effects of different saccharifying techniques on organic acids contents in wort were studied. Through the change of raw materials (different auxiliary materials proportioning and the materials grinding degree), the pH value of saccharifying water, saccharifying temperature, and saccharifying time etc., it was concluded that the organic acids in wort mainly produced by malt respiration and enzymatic hydrolyzation almost produced no organic acid in saccharification, and there was a good linear relationship ($R^2=0.943$) between total organic acids contents and original malt titratable acidity. The addition of hops and Ca^{2+} during wort boiling could decrease organic acid content in wort by 10%. (Tran. by YUE Yang)

Key words: beer brewing; organic acid; saccharifying technique; wort

啤酒中的有机酸主要包括挥发酸、低挥发酸和不挥发酸^[1]。由于分子结构的特点,它们对啤酒的口感有重要影响^[2],同时通过影响啤酒的 pH 值和缓冲性,对啤酒的货架期也有重要影响^[1,3]。国内啤酒质量指标中的 pH 值和总酸并不能真正反映出啤酒的酸感,因此控制啤酒中有机酸含量及比例有重要意义。影响啤酒中有机酸含量的主要因素有原料、糖化工艺以及酵母和发酵条件^[4,5]。Clarke 1962^[6]年发现所有从啤酒中检测到的挥发性酸也能在麦汁中检测到,只是相对的比例含量有所变化。1975 年,Tressel 等^[5]发现啤酒中的大部分有机酸同样存在于麦汁中。由此可知,麦汁中的有机酸含量及种类是决定啤酒中有机酸的基础,也是影响啤酒口感的重要因素。本研究从糖化原料以及糖化工艺的角度出发,探讨其对麦汁中有机酸种类及含量的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料

麦芽:江苏宝应麦芽厂澳麦;大米:市售粳米;超纯水:无锡华晶飘之霖有限公司。

1.2 主要仪器

高效液相色谱 (717plus AutoSampler 2487Dual λ Absorbance Detector,1525Binary pump):美国 WATERS 公司生产;EBC 标准磨:德国 DLFUW22050 生产;谷物分析仪:瑞典 FOSS 公司生产;微型糖化仪:北京市发酵工业研究所研制生产;精密 pH 计 (PHS-3C 型):上海雷磁仪器厂;附温比重瓶(25 mL):江苏海门青龙港仪表厂;纤维素酯微孔滤膜:上海新亚净化器件厂;微孔过滤器:上海医疗工业研究院。

1.3 分析方法

1.3.1 麦汁浓度测定采用比重法^[3]

1.3.2 原始酸和酶解酸^[6]

1.3.2.1 原始酸

用碘量瓶称取 50 g 粉碎麦芽,按质量比 1:2 添加中

收稿日期:2005-05-11

作者简介:向阳(1981-),男,湖北人,硕士研究生,现研究方向为啤酒中有机酸类物质。

性酒精 (用 NaOH 调 pH 至 7),在 30℃水浴恒温振荡器中恒温 2 h 钝化酶,再将酒精蒸干挥发,按 1:4 添加去离子水 200 mL,继续在 30℃下浸出 30 min。过滤,取 50 mL 滤液,用 0.1 mol/L 的 NaOH 滴定至 pH 为 9。

1.3.2.2 酶解酸

称取 50 g 的粉碎麦芽,按 1:4 添加 200 mL 的去离子水,在 53℃糖化 3 h,过滤,取 50 mL 麦汁,滴定至 pH 为 9。另取麦汁用比重瓶测其比重,将滴定结果换算为含 1 mol/L NaOH/100 g 绝干麦芽的 mL 数。所得结果减去原始酸即为酶解酸。

1.3.3 有机酸分析^[7 8]

1.3.3.1 样品预处理

麦汁→16000 r/min 高速离心→清麦汁用超纯水稀释 2.5 倍→用 0.45 μm 微孔滤膜过滤→滤液再用 ODS-C18 预处理柱过滤。

1.3.3.2 HPLC 分析有机酸条件

色谱仪 :Waters ; 色谱柱 :Waters Atlantis dC₁₈ 4.6×150 mm 5 μm ;流动相 :20 mM NaH₂PO₄ pH=2.7 ;进样体积 :10 μL ;柱温 :30℃ ;检测器 :UV220 nm。

1.3.3.3 有机酸标样浓度

准确配置 9 种有机酸标准溶液以及有机酸混合标准溶液。混合标准溶液的浓度见表 1。

表 1 有机酸混合标准溶液的浓度 (mg/L)			
有机酸	浓度	有机酸	浓度
草酸	70	α-酮戊二酸	5
酒石酸	76	乙酸	50
丙酮酸	14	柠檬酸	107
苹果酸	226	富马酸	2
乳酸	88	琥珀酸	229

1.3.3.4 有机酸定性定量方法及其准确性

以保留时间和样品加标定性,将各种有机酸标准溶液在同样的色谱条件下进样,绘制标准曲线,采用峰面积外标法定量。各有机酸的标准曲线方程见表 2。

表 2 各种有机酸的标准曲线的回归方程和线性范围			
有机酸	回归方程	相关系数	线性范围(mg/L)
草 酸	y=17318x+1903.4	0.9993	5-200
丙酮酸	y=81169x-156097	0.9982	1-200
苹果酸	y=1366.6+4179	0.9992	5-300
乳 酸	y=857.16x+1902.4	0.9986	5-400
乙 酸	y=988.36x-1833.7	0.9972	2-300
柠檬酸	y=1225.5x+10407	0.9938	5-300
富马酸	y=138435x-52569	0.9987	0.5-100
琥珀酸	y=658.79x-1551.8	0.9993	5-300
酒石酸	y=2171.8x-1460.1	0.9977	5-300

将同一啤酒的 6 个平行样在同样的色谱条件下进样,各种有机酸的标准偏差和变异系数见表 3。

表 3 该方法的精密度与重现性

有机酸	标准偏差	变异系数 (%)	有机酸	标准偏差	变异系数 (%)
草酸	0.728	4.66	乙酸	1.413	1.81
丙酮酸	0.408	2.32	柠檬酸	5.428	0.162
苹果酸	2.857	1.21	富马酸	0.058	1.06
α-酮戊二酸	0.775	2.90	琥珀酸	2.738	0.3139
乳酸	0.942	1.04			

2 结果与讨论

2.1 大米辅料比例对麦汁中有机酸含量的影响

目前啤酒生产中都使用较大比例的大米作为辅料。试验使用同一种麦芽,分别以不同比例的大米为辅料,对糖化制得的麦汁 (未煮沸)采用 HPLC 测定其有机酸含量,为便于比较,结果都用 12°P 麦汁中有机酸含量表示,见表 4。

表 4 大米辅料比例对麦汁中有机酸含量的影响

有机酸	全麦芽	大米比例 (%)			
		10	20	30	40
草酸	68.85	56.07	54.99	47.84	39.15
酒石酸	85.55	82.67	69.32	67.49	57.43
丙酮酸	10.25	9.03	7.22	6.65	5.59
苹果酸	240.01	185.62	168.74	123.75	108.31
乳酸	76.59	74.10	73.05	69.24	55.34
乙酸	276.06	262.71	219.41	205.41	118.75
柠檬酸	223.14	206.83	189.08	185.20	167.01
富马酸	0.86	0.69	0.53	0.51	0.50
琥珀酸	276.89	265.72	235.18	216.30	205.88
总有机酸	1258.20	1143.44	1017.52	922.39	758.44

从表 4 可以看出,随着大米辅料比例的增加,麦汁中的各种有机酸浓度呈不同程度的下降趋势。与全麦芽麦汁相比,30%和 40%辅料麦汁中的总有机酸含量分别降低了 26.7%和 39.8%。这说明麦汁中的有机酸主要来自于麦芽,辅料大米对啤酒中有机酸的贡献很小。

2.2 原料粉碎度对麦汁有机酸含量的影响

原料的粉碎度取决于麦芽的溶解情况^[9]。试验选择了两种麦芽 (麦芽 A :自制麦芽,溶解较差;麦芽 B :麦芽厂购买,溶解较好),分别采用 4 种粉碎度粉碎后进行糖化,过滤麦汁 (12°P 未煮沸麦汁)中的各种有机酸含量见表 5。A、B 两种麦芽在 EBC 标准磨的刻度分别为 3 和 18 下进行粉碎后糖化,其麦汁中各种有机酸的下降幅度见图 1。

由表 5 和图 1 可知,麦芽的粉碎度对有机酸含量有一定的影响。随着粉碎度的降低,麦芽粉碎得越粗,糖化麦汁中的各种有机酸含量均有不同程度的降低;而溶解较差的麦芽 (麦芽 A)的有机酸含量受粉碎度的影响要明显得多。这表明麦汁中的有机酸含量与麦芽胚乳细胞的溶解程度有关,细粉越多,酶催化接触面积越大,麦芽

表5 原料粉碎度对麦汁中有机酸含量的影响

有机酸	粉碎度*3		粉碎度 8		粉碎度 13		粉碎度 18	
	麦芽 A	麦芽 B	麦芽 A	麦芽 B	麦芽 A	麦芽 B	麦芽 A	麦芽 B
草酸	78.55	69.85	75.24	68.23	70.95	67.99	65.46	67.89
酒石酸	80.55	88.55	76.73	87.74	71.36	87.56	62.85	87.50
丙酮酸	8.56	10.05	7.99	9.91	7.02	9.88	6.89	9.28
苹果酸	256.68	238.01	230.45	237.20	222.78	236.46	205.55	234.60
乳酸	88.89	78.68	85.24	78.22	78.02	78.01	77.56	77.89
乙酸	298.98	280.06	288.27	279.90	264.89	279.86	250.98	278.16
柠檬酸	256.78	226.56	248.88	224.48	208.55	222.06	190.3	221.99
富马酸	2.36	1.86	2.12	1.79	1.04	1.86	1.02	1.79
琥珀酸	280.89	275.09	260.55	275.67	223.78	257.19	200.8	240.3

粉碎度*: 此处用 EBC 标准磨的刻度数值表示。数值越大, 麦芽粗粉越多; 数值越小, 麦芽细粉越多。

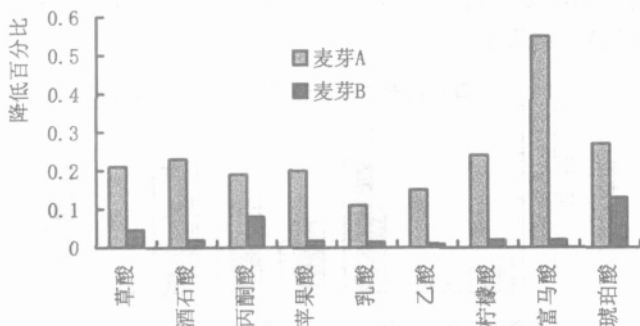


图1 不同有机酸降低幅度的比较

细胞中存在的代谢酸溶解也越完全。而对于溶解较好的麦芽(麦芽B)来说,粉碎度的变化对麦汁中的有机酸含量影响并不是很大。另一方面,不同的有机酸受粉碎度的影响也各不相同。两种麦芽中的琥珀酸含量随麦芽粉碎度的降低而下降幅度均较大,说明琥珀酸绝大部分来自于麦芽内部细胞的溶解;而乳酸和乙酸含量的降低幅度最小,说明乳酸和乙酸主要受麦芽品种的影响,而粉碎度几乎没有影响。

2.3 糖化投料水 pH 对麦汁有机酸含量的影响

采用不同 pH 的投料水,制备全麦芽麦汁,分析有机酸含量,结果见图2。

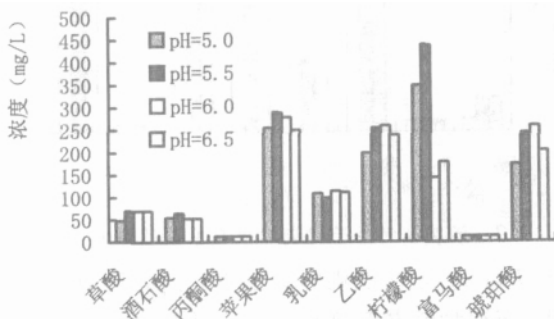


图2 糖化水 pH 对麦汁有机酸的影响

由图2可见,糖化水 pH 对麦汁中不同有机酸的影响也不同。首先,投料水的 pH 值对丙酮酸和富马酸的含量几乎没有影响,对草酸、酒石酸和苹果酸含量的影

响并不十分明显;对乙酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸的影响较明显,尤其是当投料水的 pH 值超过 5.5 时,麦汁中的柠檬酸含量明显下降,而琥珀酸和乳酸含量明显上升。因此,糖化投料水的 pH 值变化时,由于各种有机酸含量的变化不同,总有机酸含量及总酸指标可能没有明显变化,但麦汁的有机酸组成及口感有可能发生明显的改变。

2.4 蛋白质休止温度和时间对麦汁有机酸含量的影响

蛋白质休止是麦汁制备过程的重要阶段,控制适当的蛋白质休止条件,麦汁组成会得到相应的改善^[1]。在麦汁制备过程中,有机酸的浓度变化总体上呈现出先升高后降低的趋势,而且许多有机酸的峰值都出现在蛋白质休止结束。蛋白质休止阶段是有机酸浸取的重要过程,为考察该阶段工艺参数对有机酸含量分布的影响,本试验在不同的蛋白质休止温度 45℃、50℃ 和不同时间 10 min、30 min、60 min、90 min 下制备麦汁,测定未煮沸麦汁(换算为 12°P 麦汁)中有机酸的含量,其结果分布图见图3。

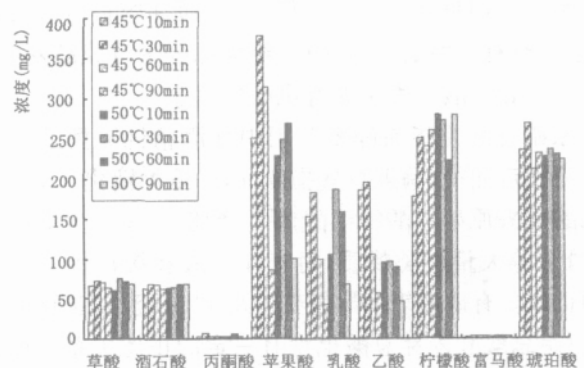


图3 糖化时间和温度对麦汁有机酸分布的影响

从图3可见,温度对麦汁中乙酸有较大的影响,当温度上升为 50℃ 时,其浓度有较大幅度的下降,这与具有挥发性有关,温度越高,挥发越快。其次是苹果酸也有降低的趋势。时间对所有有机酸的影响更具有一致性,特别是在 45℃ 下蛋白休止时间从 10~90 min 变化时,有机酸在 30 min 具有一个最高值,即当蛋白质休止时间为 30 min 时,麦汁中有机酸的含量达到相对最大值。有机酸浸出的过程是缓慢进行的,麦汁中的有机酸处于一个平衡中,即有机酸在不断浸取溶解到麦汁中的同时,由于各种原因(如挥发酸因部分挥发,其他部分酸可以和金属离子生成沉淀或者化学分解变成其他物质)也在不断的减少。注意到,虽然蛋白质休止温度和时间是根据麦汁含氮物质要求设定的,但是有机酸也在此有相对最大值,而且这个参数与现在大多数采用的糖化工艺一

致。如何详细解释这种现象,需要进一步的研究。

2.5 糖化过程中酶解对有机酸的影响

2.5.1 酶的钝化对麦汁有机酸的影响

麦汁中的有机酸是全部来自麦芽,还是部分产生于酶解作用?笔者用同一麦芽粉,一份用中性酒精钝化麦芽酶系,再用水浸提有机酸;另一份麦芽正常糖化后测定有机酸,图 4 是分析结果。

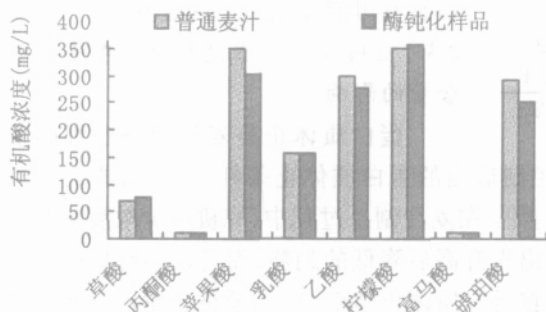


图 4 酶钝化后样品和对照麦汁有机酸的比较

由图 4 可知,两种不同处理麦汁中各种有机酸略有差别,酶钝化后的麦汁的总有机酸 (1554 mg/L) 比对照麦汁 (1476 mg/L) 变化小于 5%,差别不明显,因此,可以认为两种样品中有机酸没有明显的差别。这说明糖化过程中酶的作用虽然对麦汁酶解总酸、缓冲容量有很大影响,但是对有机酸的贡献很小,绝大部分来自成品麦芽。

2.5.2 原始总酸和麦芽总有机酸的关系

原始总酸是指粉碎麦芽用中性酒精钝化酶后用水浸出后滴定测得,酶解总酸指麦芽在 53℃ 糖化 3 h 后测得总酸减去原始总酸得到的值^[1]。酶解过程产生的氨基酸、磷酸等大量酸类物质,对麦汁总酸和缓冲性有决定性的贡献。有研究表明^[9],麦芽总酸和 pH 没有正比的关系,原始总酸和麦芽总酸也没有一定的正比关系。原始总酸是直接用水浸取的存在于麦芽中的酸类物质,麦芽中的酸类物质主要有磷酸、呼吸代谢的有机酸、氨基酸、酮酸和少量硫酸。本文测定不同麦芽的原始总酸和各种有机酸,结果见图 5。

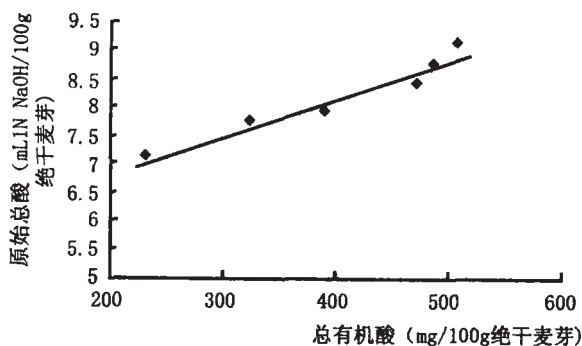


图 5 原始酸和总有机酸的关系

通过试验发现,不同麦芽的原始酸的差别很大,最

高的达 9.16 mL 1N NaOH/100 g 绝干麦芽,最低的为 7.13 mL 1N NaOH/100g 绝干麦芽,麦芽总有机酸量差别也较大,最高者达 507 mg/100 g 绝干麦芽,最低的为 232 mg/100 g 绝干麦芽。而且,原始酸和总有机酸有较好的线性关系 ($R^2=0.934$)。因此,原始酸的主要贡献者是呼吸代谢产生的有机酸,这样可以通过测定原始酸来初步判定麦芽中总有机酸的含量。

2.6 煮沸对麦汁有机酸含量的影响

2.6.1 煮沸方式对麦汁有机酸的影响

将过滤好的麦汁分为两份,一份采用敞口煮沸,最后调到需求浓度时的初始体积;另一份,用密闭圆底烧瓶附加冷凝回流装置煮沸,麦汁体积不变。过滤后测定有机酸,结果见图 6。

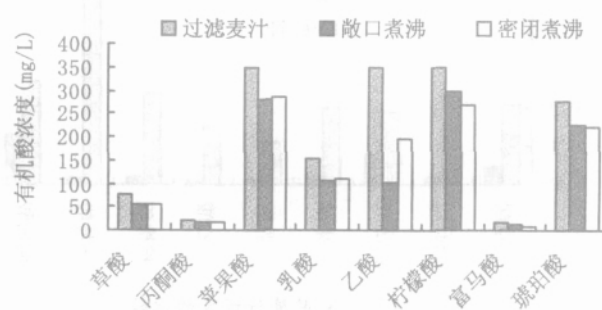


图 6 麦汁煮沸及煮沸方式对有机酸的影响

由图 6 可见,麦汁经过煮沸后,所有的有机酸含量都有不同程度的下降。乙酸在敞口煮沸后的下降幅度远远大于密闭煮沸时的下降幅度,而其他有机酸含量几乎不受煮沸方式的影响。

2.6.2 添加酒花、钙离子对麦汁有机酸的影响

在麦汁煮沸时分别添加酒花及钙离子,测定各种有机酸含量的变化,结果见图 7。

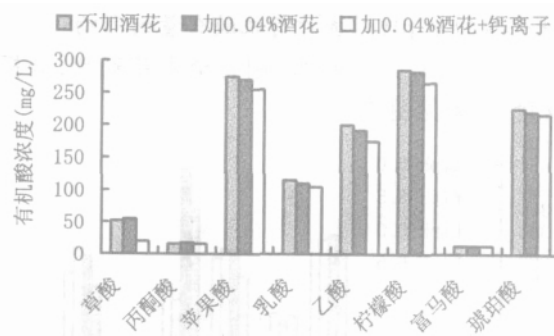


图 7 酒花及钙离子对麦汁中有机酸的影响

由图 7 可见,麦汁煮沸时添加酒花对各种有机酸的影响较小,而添加酒花和钙离子的麦汁各种有机酸均有降低的趋势,草酸表现最为明显,降幅达 69%,其次是乳酸、富马酸、乙酸、琥珀酸和柠檬酸,总有机酸含量下降 10%。原因可能是部分有机酸和钙离子形成不溶性的盐而被除去,如草酸钙、乳酸钙沉淀等。因此,煮沸时

(下转第 57 页)

中 Ca^{2+} 量减少,影响了酵母的凝聚。 Ca^{2+} 是糖化和发酵必不可少的离子,正常含量的 Ca^{2+} 在发酵后期可促进酵母相邻细胞壁间离子集团连接,利于其在降糖结束后的凝聚,而一定量的 Ca^{2+} 被卡拉胶吸附后,酵母凝聚性发生了变化,造成酵母分层、不易分离的结果。所以,我厂根据实际情况在糖化麦汁中加入了一定量的含钙化合物来补充因此而缺失的 Ca^{2+} 。

在过滤时有无卡拉胶效果差别较大,由于发酵液中细小的颗粒大部分被卡拉胶吸附除去,减少了过滤阻力,过滤速度明显加快。加卡拉胶同未加卡拉胶的发酵液相比过滤速度快,过滤压差上升缓慢,吨酒耗硅藻土量可节省 20 % 左右,水耗、电耗都下降 5 % 左右,可见使用卡拉胶能明显降低生产成本。

3.3 成品酒比较

对以上实验的各罐酒进行感官评定,两种酒的泡沫、香气、口味没有明显的区别,各项理化指标基本未受影响。各罐发酵液灌装后各项理化指标对照见表 4。

4 结论

从以上的实验和生产验证情况可以看出,卡拉胶是啤酒酿造过程中比较理想的澄清剂。在麦汁煮沸结束前 10 min 添加,添加量可以根据各厂家原料的实际情况确定及随时调整。卡拉胶能显著地改善麦汁的外观质量,尤其是在麦芽溶解不足的情况下使用,效果更加明显。

(上接第 54 页)

添加一定量的钙离子,一方面可以调节麦汁 pH,另一方面可以降低有机酸的含量。

3 结论

3.1 麦汁中的有机酸主要来自于麦芽,大米辅料几乎不提供有机酸。麦芽原始酸与总有机酸含量呈较好的线性关系,即总呼吸酸是麦芽原始酸的主要成分。控制制麦过程中有机酸含量是控制麦汁中有机酸的关键。

3.2 麦芽的粉碎度对麦汁的有机酸含量有一定影响,尤其是溶解较差的麦芽,粉碎越粗,有机酸含量越低,而对溶解较好的麦芽而言,粉碎度对有机酸的影响较小。

3.3 投料水的 pH 对麦汁的总有机酸量影响并不大,但部分有机酸含量的变化较明显,有可能对麦汁乃至啤酒的口感产生明显影响。

3.4 麦汁经煮沸后,绝大部分有机酸含量均有不同程度下降,其中乙酸经敞口煮沸后下降幅度最大。煮沸时添加酒花对有机酸含量没有显著影响,但钙离子的添加有助于降低有机酸含量。

表 4 成品酒各项理化指标

理化指标	加卡拉胶			未加卡拉胶		
	5#罐	20#罐	8#罐	3#罐	7#罐	14#罐
色度(EBC)	5.0	4.75	4.75	5.50	5.25	5.50
浊度(EBC)	0.29	0.31	0.28	0.39	0.41	0.40
总酸(mL/100mL) ≤	1.28	1.28	1.33	1.33	1.38	1.28
酒精(% v/v) ≥	4.90	5.15	4.96	4.96	4.91	4.96
实际浓度(% m/m)	3.30	2.94	3.219	3.25	3.27	3.245
原麦汁浓度(°P) ≥	10.90	10.93	10.92	10.95	10.89	10.95
发酵度(%)	69.77	73.15	70.54	70.33	70.02	70.36
双乙酰(mg/L) ≤	0.048	0.053	0.062	0.050	0.045	0.057
二氧化碳(% m/m)	0.54	0.55	0.60	0.52	0.53	0.54
pH	4.21	4.22	4.27	4.19	4.19	4.20
苦味值(BU)	19	18	17	19	20	19
泡持性(S)	192	202	212	227	199	201
综合评价	泡沫洁白细腻挂杯,酒花香气明显,口味纯正清爽,酒体协调柔和			泡沫较洁白细腻挂杯,酒花香气明显,口味纯正协调		

经卡拉胶处理的麦汁对酵母发酵不存在负面影响,酿制出的啤酒颜色为淡黄色,理化指标均符合国家或企业产品标准,且使用卡拉胶能降低酒损和硅藻土消耗,给企业带来一定的经济效益。我厂自使用卡拉胶以来,从提高麦汁清亮程度及酒液非生物稳定性,改善口味和增加泡持性,以及降低生产成本等方面均有一定的改观,卡拉胶的应用是比较成功的,使我厂的啤酒质量有较大提高。●

参考文献:

- [1] 顾国贤.酿造酒工艺学(第二版)[M].北京:中国轻工业出版社,1996.
- [2] Karl J.Siebert, Modeling the flavor thresholds of organic acids in beer as a function of their molecular properties[J]. Food Quality and Preference .1999 (10):129-137.
- [3] 管敦仪.啤酒工业手册(中册)[M].北京:中国轻工业出版社,1986.
- [4] 谷桐彦,霍秀娟.浅谈啤酒中的酸[J].酿酒,2004 (3) 25-26.
- [5] Whiting, G.C. Organic acid metabolism of yeasts during fermentation of alcoholic beverages—a review[J]. J.Inst. Brew., 1976,82:84-92.
- [6] Mackenzie, K.G. et al. Non-volatile organic acids and pH changes during the fermentation of distiller's wort. [J] J. Inst. Brew., 1965, 2:160.
- [7] 杨毅.RP-HPLC 测定啤酒中有机酸[J].食品与发酵工业,2003 (18):6-12.
- [8] Barber.Loy E. The analysis of organic acids by ion chromatograph in beer and wort. [J] J. Am. Soc. Brew. Chem., 1990, 48(1): 44-46.
- [9] 方贵程.江南大学本科论文[C].2003.