

全酶法制备啤酒用大麦糖浆新工艺的研究

程美科, 单守水, 王 芳, 徐世艾

(烟台大学化工制造工程山东省重点实验室, 山东 烟台 264005)

摘 要: 以国产大麦为原料, 采用全酶法经预水解、液化和两段糖化制备酿造啤酒用大麦糖浆生产工艺。考察液化时间对 DE 值和原料浸出率的影响; 淀粉、蛋白质和粘性非淀粉多糖的降解; 采用此工艺, 可生产出与普通麦汁成分相近的大麦糖浆, 将其代替部分麦芽汁应用于啤酒酿造, 获得了理想的结果。

关键词: 啤酒; 全酶法; 酶制剂; 大麦糖浆; 生产工艺

中图分类号: TS262.5; TS261.4; Q814 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2008)01-0027-05

Research on New Preparation Techniques of Barley Syrup for Beer Brewing by Holoenzyme Method

CHENG Mei-ke, SHAN Shou-shui, WANG Fang and XU Shi-ai

(Shandong Key Lab of Chemical Manufacture Engineering, Yantai University, Yantai, Shandong 264005, China)

Abstract: Barley syrup for beer brewing was produced by holoenzyme method as follows: domestic barley used as raw materials, then hydrolysis, liquefaction, two-phase saccharification operated. The effects of different liquefaction time on DE value and the lixiviating rate of raw materials were investigated. Besides, the degradation of starch, protein and viscous non-starch polysaccharides were studied. Barley syrup, which was similar to common wort in compositions, could be produced by such technique and its use instead of part wort in beer brewing could also achieve satisfactory results.

Key words: beer; holoenzyme method; zymin; barley syrup; production techniques

随着我国啤酒工业的快速发展及啤酒产量的连年攀升, 选用不适宜于发芽的国产大麦为原料, 应用现代酶技术制备啤酒专用糖浆的应用研究日益增多^[1-7]。目前, 啤酒用大麦糖浆的糖化工艺大多采用单一的优化条件^[4-6], 但由于各酶制剂的来源不同, 有其不同的最佳适用条件, 而单一的优化工艺条件不能全部充分发挥各自的最大作用; 而且, 糖浆中可溶性氮的隆丁区分与优质麦汁有偏差, 游离氨基氮含量偏低; 同时, 对粘性非淀粉多糖的分解, 仅局限于对 α -葡聚糖降解的研究^[3-6], 而对于木聚糖降解的研究报道极少。为此, 本文系统地研究了酶法制备啤酒用大麦糖浆的分段式糖化生产工艺, 以期为其实现工业化提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

江苏大麦, 购于江苏; α -高效耐温液化酶、 α -淀粉酶、普鲁兰酶、复合型蛋白酶、大麦粘性多糖水解酶 A 和水解酶 B(水解酶 A 主要是水解 α -葡聚糖的复合酶; 水

解酶 B 是水解各类戊聚糖的复合酶)等酶制剂, 由烟台新世生物技术研究所提供。

1.2 仪器和设备

高效液相糖分析色谱仪: Waters 公司, 美国; RE52CS-1 旋转蒸发器: 上海亚荣生化仪器厂; AR2140 型电子天平: 梅特勒-托利多仪器有限公司; pH5-3C 型酸度计: 上海第二分析仪器厂; HH-S4 型数显恒温水浴锅: 郑州长城科工贸有限公司; DV-2+PRO 数字式黏度计: 上海尼润智能科技有限公司; 全套凯式定氮装置: 烟台开发区品格林实验室配套设备有限公司; 手持式阿贝折射仪: 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 分析方法

干物质: 阿贝折光仪法。

还原糖: 采用参考文献[7]斐林试剂法。

糖组分: 高效液相色谱分析法。

色谱条件: 色谱柱, Sugar-Pak1(Ca²⁺型), 6.5 mm × 300 mm(美国 Waters 公司); 检测器: 示差折光检测器 (Refractive Index Detector, 美国 Waters 公司); 柱温

基金项目: 山东省科技攻关项目(2005GG4209001)。

收稿日期: 2007-09-24

作者简介: 程美科(1980-), 男, 在读研究生, 研究方向: 酶制剂及其应用。

通讯作者: 徐世艾(1964-), 男, 博士, 教授, E-mail: czs@ytu.edu.cn。

箱: Waters Column Heater Module(美国 Waters 公司);
处理器: Dell; 流动相为: 脱气去离子水; 流动相流速:
0.5 mL/min; 柱温: 85 ; 进料量: 20 μ L。

- 氨基氮: 采用参考文献[7]茚三酮比色法。

可溶性氮的隆丁区分: 采用参考文献[8]的方法分析。

可溶性氮: 根据 GB/T5009.3- 2003, 采用凯式定氮法测定。

- 葡聚糖: 采用参考文献[7]刚果红分光光度法分析。

大麦汁黏度: 数字式黏度计分析。

原料利用率的测定计算: 糖化浸出物收得率 / 标准协定糖化酶法^[9]的浸出物收得率 $\times 100\%$ 。

最终发酵度的测定与计算: 采用参考文献[8]所述方法。

1.4 实验方法

1.4.1 工艺流程

大麦粉 调浆 预水解 液化 分段糖化 灭酶活 脱色 过滤 浓缩 大麦糖浆

1.4.2 操作要点

调浆: 料水比 1:3(g:mL), 加乳酸调 pH6.5。

预水解: 加复合型蛋白酶, 50 预水解。

液化: 加 - 高效耐温液化酶升温 98 , 液化, 降温至 50 。

分段糖化: 第一段调 pH6.5, 加入各单酶 50 糖化; 第二段加乳酸调 pH5.5, 升温至 55 继续糖化。

灭酶活: 升温 80 , 沸水浴保持 30 min。

2 结果与分析

2.1 大麦粉液化工艺条件研究

根据 - 高效耐温液化酶厂家提供的最佳使用条件, 选用液化温度 100 、液化 pH6.5, 酶用量 15 u/g 原料条件下, 研究不同液化时间对液化效果的影响, 结果见表 1。

表 1 不同的液化条件对液化的影响

液化时间 (min)	还原糖(g/100g, 以葡萄糖计)	干物质 (%)	DE 值 (%)	原料利用率 (%)	碘检 颜色
10	1.65	18.40	8.47	83.5	黑蓝
20	1.97	19.10	9.63	87.2	蓝紫
40	2.23	20.20	10.31	91.8	紫红
60	2.25	20.25	10.39	92.4	紫红
80	2.27	20.30	10.46	92.6	紫红
100	2.28	20.30	10.48	93.0	浅红

由表 1 可知, 随着液化时间的延长, 还原糖含量、干物质含量、DE 值及其原料利用率均有不同程度增长, 但当液化时间超过 40 min 后, 各指标的变化趋于平缓, 基本维持在相对稳定的水平, 此时碘检呈紫红色, 由此确

定最佳的液化时间 40 min。

2.2 大麦粉糖化工艺条件研究

根据酶制剂厂家所提供的大麦粘性多糖水解酶 A 和水解酶 B、复合型蛋白酶、普鲁兰酶和 - 淀粉酶的最适作用条件列于表 2。由表 2 可知, 这几种酶的最适温度和 pH 明显分为两个阶段, 为了充分发挥这几类酶的最大作用, 采用分段式糖化, 其糖化方案见表 3。

表 2 酶制剂的最适作用条件

项目	最适温度(°C)	最适 pH
水解酶 A	50	6.5
水解酶 B	50	6.5
复合型蛋白酶	50 左右	6.5 左右
普鲁兰酶	55 左右	5.5 左右
β -淀粉酶	55 左右	5.5 左右

表 3 分段糖化方案

项目	糖化分段	
	第一段	第二段
糖化条件	50 °C, pH6.5	55 °C, pH5.5
主要作用酶	水解酶 A 和 B、复合型蛋白酶	β -淀粉酶、普鲁兰酶
水解种类	β -葡聚糖、木聚糖、蛋白质的休止	淀粉的水解

2.2.1 第一段糖化时间的确定

第一段糖化时间由 - 葡聚糖、木聚糖、蛋白质的休止程度决定, 根据参考文献[5]及其酶制剂的参考用量, 复合型蛋白酶、水解酶 A 和水解酶 B 的添加量分别为 100 u/g、2 u/g 和 4 u/g 原料, 在 pH6.5、50 下糖化, 检测糖化效果(α -N)随时间的变化曲线, 结果见图 1~ 图 2。

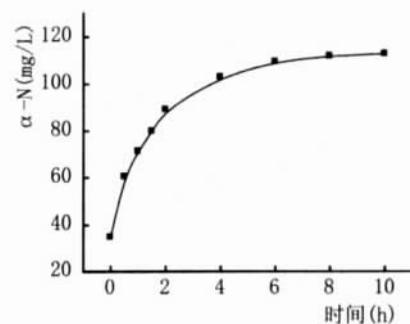


图 1 α -N 含量与糖化时间的关系

由图 1 可知, 糖化 2 h 时, - N 含量为 89 mg/L, 达到最大值的 81%。由图 2 可知, 糖化 2 h 时, 大麦汁黏度降低率达到最大降低率的 72.3%。由于在第二段糖化时复合型蛋白酶、大麦粘性多糖水解酶 A 和水解酶 B 也起部分作用, 因此选择第一段的糖化时间为 2 h。

2.2.2 大麦淀粉水解的研究

啤酒用大麦糖浆所需要的糖组分主要依赖于淀粉酶对大麦淀粉的水解^[9]。就 - 淀粉酶单独糖化时的添加

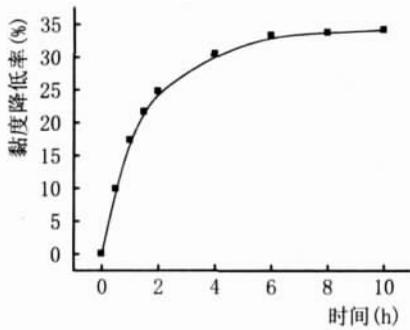


图2 大麦汁黏度降低率与糖化时间的关系

量对麦芽糖含量的影响进行试验,得到的糖化醪用 Sugar-Pak1(Ca²⁺型)高效液相色谱分析(典型的糖组分液相色谱图见图3),其结果见图4。在 α -淀粉酶单独糖化选择最佳用量的实验条件下,就普鲁兰酶的用量对麦芽糖含量的影响进行实验,结果见图5。

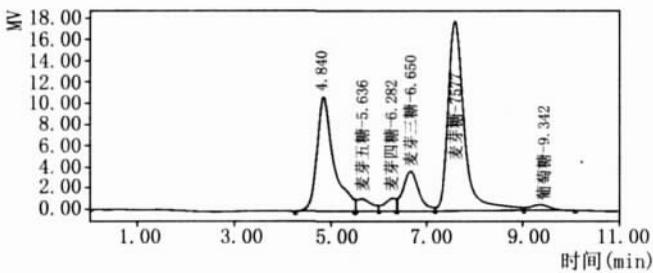


图3 糖组分液相色谱分析图

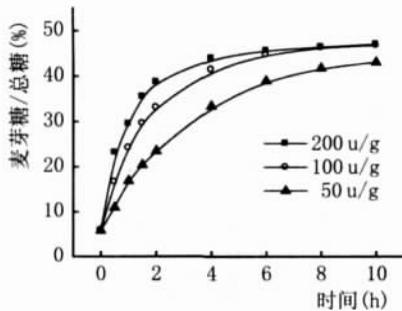
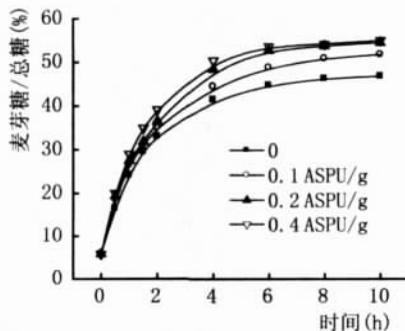
图4 α -淀粉酶添加量对麦芽糖含量的影响

图5 普鲁兰酶添加量对麦芽糖含量的影响

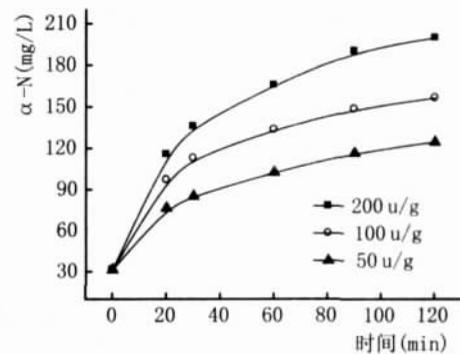
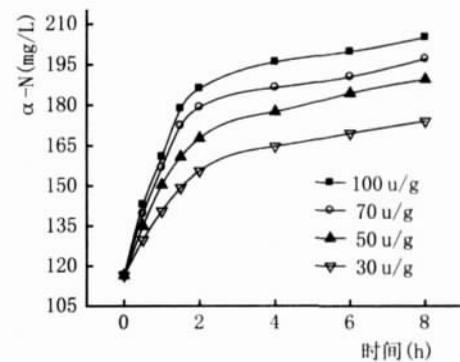
由图4可知, α -淀粉酶最佳添加量为100 u/g原料,最佳糖化时间为6 h。由图5可知,适当添加普鲁兰酶可以明显地提高麦芽糖的含量,普鲁兰酶的最佳用量为

0.2 ASPU/g原料,最佳糖化时间为6 h。

2.2.3 蛋白质分解的研究

啤酒用大麦糖浆需要含有一定量的蛋白质分解物,其中 α -N是酵母发酵的主要氮源,如果不足,会影响酵母生长和发酵^[10]。大麦糖浆中可溶性氮的含量与分布直接影响啤酒质量^[9],对啤酒的风味和泡持性及非生物稳定性都有着重要影响。

液化前,在pH值6.5、温度50 的条件下,就复合型蛋白酶的加酶量进行蛋白质预水解试验,检测 α -N含量(12 $^{\circ}$ P)的变化情况,结果见图6。在图6所确定的试验条件下得到的料液经液化,再添加不同复合型蛋白酶,检测糖化过程中 α -N含量(12 $^{\circ}$ P)的变化情况,结果见图7。

图6 液化前蛋白酶的添加量对 α -N的影响图7 液化后蛋白酶的添加量对 α -N的影响

由图6可看出,液化前进行蛋白质的预水解,在很短的时间可产生大量的 α -N。复合型蛋白酶用量过大或水解时间过长,虽可以增加 α -N含量,但也会增加可溶性氨基氮的含量,从而增加了后续除高分子可溶性氮的操作。综合考虑经济因素,选择添加复合型蛋白酶100 u/g原料,预水解时间30 min, α -N含量(12 $^{\circ}$ P)达到112.8 mg/L。由图7可知,液化后复合型蛋白酶添加量在50~100 u/g原料,糖化4~6 h, α -N含量(12 $^{\circ}$ P)在165~200 mg/L之间,能满足普通麦汁的要求^[9]。

同时,测定图7中糖化6 h的糖化液中可溶性氮的茚丁区分,结果见表4。

表4 可溶性氮的隆丁区分

加酶量 (u/g 原料)	总可溶性氮 (mg/L, 12°P)	高分子氮 (%, A区)	中分子氮 (%, B区)	低分子氮 (%, C区)
0	870.2	26.21	31.92	41.87
30	940.7	17.22	29.96	52.82
50	994.6	12.56	24.04	63.40
70	1077.4	9.56	23.88	67.56
100	1210.1	7.52	20.44	72.04

由表4可知,当复合型蛋白酶添加量为50 u/g原料,糖化6 h时,可溶性氮的隆丁区分较为合理,A区为12.56%、B区为24.04%、C区为63.40%,能符合普通麦汁隆丁区分(A区<25%,B区在15%~25%之间,C区在60%左右^[9])。

综合考虑复合型蛋白酶对-N含量、可溶性氮总量及其可溶性氮的隆丁区分,选择复合型蛋白酶添加量为50 u/g原料,结合大麦淀粉的水解,选择糖化6 h时,-N含量为184.4 mg/L。

2.2.4 粘性非淀粉多糖的分解

为了降低料液黏度,提高浸出物的得率,需要对-葡聚糖、木聚糖等非淀粉多糖(本文称之为粘性非淀粉多糖)进行分解^[11],在上述确定的糖化工艺条件下,就大麦粘性多糖水解酶A和水解酶B用量与大麦汁黏度的关系进行试验,水解酶A添加量对-葡聚糖降解和大麦汁黏度的影响结果见表5,添加2.0 u/g原料水解酶A条件下水解酶B添加量对大麦汁黏度的影响结果见表6。

由表5、表6可以看出,适当的添加水解酶A和水解酶B可明显降低大麦糖浆的黏度,综合考虑经济因素,确定水解酶A和水解酶B的最佳添加量分别为2.0 u/g原料和3.0 u/g原料。

2.3 大麦糖浆和普通麦汁成分比较

在上述确定的工艺条件下得到的糖化液在75 °C下加入活性炭(0.5%)脱色30 min,除杂、过滤得到纯净的糖液,经真空减压浓缩(真空度0.01 MPa、温度50~55 °C)后,得到浓度75%左右的浓缩糖浆。将其成分(稀

表5 水解酶A添加量对β-葡聚糖降解和大麦汁黏度的影响

项目	加酶量(u/g 原料)							
	0	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	
β-葡聚糖(mg/L, 21°P)	525.3	366.9	97.6	37.1	28.1	21.7	18.6	
β-葡聚糖的降解率(%)	0	30.2	81.4	92.9	94.7	95.9	96.5	
大麦汁黏度(mPa·s, 21°P)	4.86	3.98	3.73	3.57	3.54	3.56	3.53	
大麦汁黏度降低率(%)	0	18.1	23.3	26.5	27.2	26.7	27.4	

注:21°P全麦芽汁测定黏度为3.46 mPa·s。

表6 水解酶B添加量对大麦汁黏度的影响

项目	加酶量(u/g 原料)							
	0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	
大麦汁黏度(mPa·s, 21°P)	3.57	3.48	3.40	3.31	3.28	3.27	3.27	
大麦汁黏度降低率(%)	0	2.5	5.0	7.6	8.1	8.4	8.4	

释至12°P)与普通麦汁^[9]对比,结果见表7。

表7 大麦糖浆和普通麦汁成分对比表(12°P)

项目	大麦糖浆	普通麦汁
总还原糖(g/L, 以麦芽糖计)	92.4	90~95
葡萄糖/总糖(%)	1.31	≤10
麦芽糖/总糖(%)	52.75	43~53
麦芽三糖/总糖(%)	17.23	10~20
色度(EBC单位)	5~9	3.8
最终发酵度(%)	66.3	65~70
α-氨基氮(mg/L)	184.4	180~200
可溶性总氮(mg/L)	994.6	800~1200
隆丁区分		
高分子氮/总氮(%)	12.56	<25
中分子氮/总氮(%)	24.04	15~25
低分子氮/总氮(%)	63.4	60左右

由表7可知,采用上述生产工艺制备的大麦糖浆与普通麦汁非常接近,其中某些指标还优于普通麦汁。

2.4 大麦糖浆应用于啤酒酿造的研究

为验证啤酒糖浆的应用效果,在某啤酒厂的配合下,进行了大麦糖浆代替30%麦芽汁酿造啤酒的试验。糖化投料对比结果见表8。稀糖浆在麦汁煮沸结束前20~30 min泵入煮沸锅中,继续煮沸到工艺要求的煮沸强度,达到规定的麦汁最终浓度,使用大麦糖浆前后麦汁成分分析结果见表9。发酵采用正常的发酵工艺进行控制,将发酵原酒稀释成10°P成品酒,其指标测试结果见表10。

表8 糖化投料试验对比

原料	正常生产	试验罐
麦芽(kg)	1800	1260
大米(kg)	900	900
大麦糖浆(干物75%/kg)	—	540

由表9测试的对比指标可以看出,麦汁成分相关指标没有明显区别。通过对表10相关试验指标对比发现,大麦糖浆代替30%麦芽汁发酵后所得成品酒质量指标达到GB4927-2001优级水准。

3 结论

3.1 研究表明,以国产大麦为原料,采用全酶法分段式糖化生产工艺,充分发挥了各类酶制剂的作用,可以得到与普通麦汁相近成分的大麦糖浆,其工艺见图8所示。

3.2 通过调整糖化过程中-淀粉酶和普鲁兰酶的用量及糖化时间,可灵活地调整大麦糖浆中麦芽糖、可发酵性糖的含量;采用液化前后分批添加复合型蛋白酶的工艺,可得到与普通麦汁相近的-氨基氮、可溶性氮含量及其合理的可溶性氮隆丁区分;通过添加大麦粘性水解

表9 麦汁成分分析结果

方案	试验罐	正常罐
浓度(°P)	12.02	12.01
α -N(mg/L)	181	178
色度(EBC)	6.9	7.05
pH	5.45	5.47
酸度(mL/100mL)	1.06	1.10
糖/非糖	1:0.23	1:0.24
产量(kL)	16.02	15.98

表10 成品酒指标检测结果

方案	试验罐	正常罐
酒精(%vol)	3.51	3.50
真正发酵度(%)	70.6	70.2
色度(EBC)	5.52	5.55
总酸(mL/100mL)	1.51	1.53
pH值	4.31	4.30
双乙酰(mg/L)	0.03	0.03
泡持性(s)	252	255

酶A和水解酶B,很好地降低了大麦汁的黏度。

3.3 大麦糖浆代替30%的麦芽汁酿造啤酒的成功证明了其应用的可行性。

参考文献:

- [1] 王海明,王长河.糖浆在啤酒行业中的应用[J].酿酒科技,2004,(3): 58-60.
- [2] 熊丽苹,黄立新,周彦斌.国内啤酒专用淀粉糖浆的开发和应用[J].2004,20(4): 151-154.
- [3] 邹东恢,侯美玉.啤酒专用糖浆的研究与应用[J].食品工业,2005,(4): 9-10.

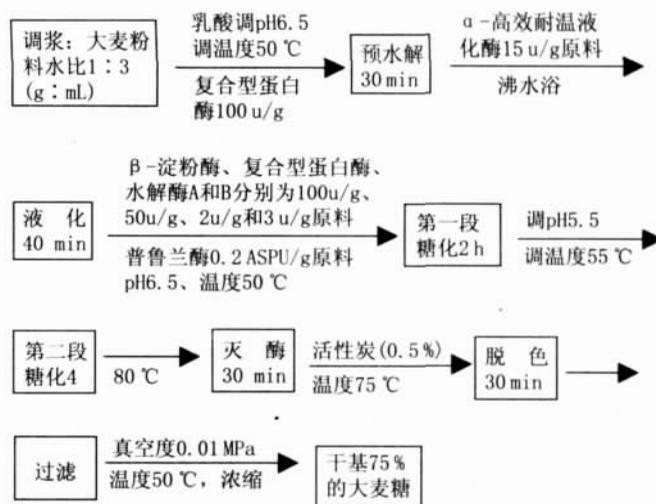


图8 全酶法分段式糖化生产工艺流程图

- [4] 孙向军,姚晓敏.全酶法制备大麦糖浆的研究[J].粮油食品科技,2000,8(3): 25.
- [5] 单守水.啤酒酿造用大麦糖浆的研制与工业化生产设计[D].天津:天津科技大学,2005.
- [6] 吴果达,王栋,顾国贤.浓缩大麦糖浆的研制[J].酿酒,1997,(6): 25.
- [7] 王福荣.酿酒分析与检测[M].北京:化学工业出版社,2005.
- [8] 管敦仪.啤酒工业手册[M].北京:中国轻工业出版社,1982.
- [9] 顾国贤.酿造酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,1996.
- [10] 段钢,周宏伟,姜锡瑞.利用酶制剂提高啤酒糖浆质量[J].食品工业科技,2005,(3): 86-88.
- [11] 布里格斯著,李崎,孙军勇,董霞,等译.麦芽与制麦技术[M].北京:中国轻工业出版社,2005.

(上接第26页)

由上述图表可知,基酒中各成分的通过率差别较大。总的来说,通过率最高的是高级脂肪酸乙酯(除乳酸乙酯),通过率都在70%以上,残留量极少;冷凝液的酒精度升高,说明乙醇的通过率也非常高,达到57.3%;高级醇的通过量也比较高,可达50%以上。损失量较多的物质有正己醇(32%)、乳酸乙酯(40%)、乙醛(59%)、乙缩醛(32%)等。

浓香型白酒的主要呈味物质乙酸乙酯通过率较高。

白酒中的呈涩味物质主要有乳酸及乳酸乙酯、杂醇油(主要是高级醇)等,其中乳酸乙酯更是被称为白酒的“涩味之王”,而辛辣味主要由醛类产生,所以以上几种物质的损失不会对白酒的风味造成大的不良影响。

过膜速率分析:乙醇过膜速率维持在 $2000 \text{ g/m}^2 \cdot \text{h}$ 以上,远远大于其他成分,总体看来,平均过膜速率:乙醇>酯类(乳酸乙酯除外)>醛类>其他醇类>水。过膜速率体现了该膜对各物质的选择性,说明渗透汽化膜对乙醇有较高的优先选择性。

3 结论

3.1 乙醇的过膜速率基本维持在 $2000 \text{ g/m}^2 \cdot \text{h}$ 以上,远远大于其他成分,说明渗透汽化膜对乙醇有较高的选择性。

3.2 白酒中的各种香味物质过膜情况不尽相同,所以可以通过控制实验条件分别进行收集。

3.3 膜分离实现了香味物质的分别收集,可以将其应用于白酒的调配、新型白酒的生产等方面。

3.4 渗透汽化膜在有机物的分离方面显示出了良好的性能。此技术有较好的工业前景。

参考文献:

- [1] 刘茉娥,等.膜分离技术应用手册(第一版)[M].北京:膜分离技术应用手册,2001.
- [2] 沈怡方,李大和.低度白酒生产技术(第一版)[M].北京:中国轻工业出版社,1996.
- [3] 肖泽仪.硅橡胶膜生物反应器及其用于乙醇连续发酵的研究[J].四川大学学报(工程科学版),2003,(1): 1-7.