

加酶制备燕麦麦汁的正交试验研究

余有贵¹, 梁莲花², 赵良忠¹, 蒋盛岩¹, 黄清华¹

1. 邵阳学院生物工程系, 湖南 邵阳 422004 2. 百惠啤酒公司邵阳分公司, 湖南 邵阳 422003)

摘要: 以燕麦为辅料制备麦芽汁, 采用正交试验设计研究酶的添加量、添加阶段、作用时间、辅料添加量对麦芽汁品质的影响。结果表明, NSP 酶的添加量对麦汁的过滤时间、糖化时间、 α -氨基氮含量、还原糖量和收得率均有显著性影响 ($p < 0.05$), NSP 酶的添加阶段和燕麦添加量均只对麦汁中 α -氨基氮含量有显著性影响 ($p < 0.05$), 而 NSP 酶的作用时间对测定的理化指标均无显著性影响 ($p > 0.05$)。最佳工艺条件为 NSP 复合酶添加量为 0.24%, 燕麦添加量为 30%, NSP 复合酶在蛋白质休止的第一阶段 (45℃) 添加, 保温 23 min。

关键词: 麦芽; 燕麦; 麦汁; 正交试验

中图分类号: TS262.5; TS261.4 Q814 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286 (2005)12-0066-03

Orthogonal Tests of the Production of Oat Wort by Enzyme Addition

YU You-gui¹, LIANG Lian-hua², ZHAO Liang-zhong¹, JIANG Sheng-yi¹ and HUANG Qinghua¹

1. Bioengineering Department of Shaoyang College Shaoyang 422004; 2. Shaoyang Branch of Baihui Brewery, Shaoyang 422003, Hu'nan 422003, China)

Abstract: Oat was used as auxiliary material to produce wort. The effects of addition level of enzyme, addition phase, action time, and addition quantity of auxiliary material on wort quality were studied by orthogonal tests. The results showed that the addition level of NSPase had significant effect on wort filtration time, saccharifying time, α -amino nitrogen content, reducing sugar content and liquor yield ($p < 0.05$). The addition phase of NSPase and addition quantity of oat had only significant effect on α -amino nitrogen content ($p > 0.05$). And the action time of NSPase had no significant effect on the physiochemical indexes ($p > 0.05$). The best technical conditions were summed up as follows: 0.24% NSPase addition quantity, 30% oat addition quantity, addition of NSPase at the first stage of protein rest (45℃), and 23 min heat preservation (tran. by YUE Yang)

Key words: malt; oat; wort; orthogonal test

燕麦是禾本科燕麦属的草本植物, 我国栽培的燕麦主要分带壳燕麦 (颖长而硬) 和裸燕麦 (颖短而软)。燕麦的蛋白质含量平均在 13.6%~16.1%, 含赖氨酸 3.7%, 脂肪含量 3.7%~7.8% 的主要成分由单一不饱和脂肪酸、亚油酸和次亚油酸构成, 此外还含有较多的维生素 B₁, 维生素 B₂ 和少量的维生素 E, 钙、磷、硒。中医认为燕麦有收敛止血、固本止汗之功效。现代医学证实燕麦是一种具有降血脂、降血压、抗氧化等具有多种生物活性的食品^[1-5]。

现代啤酒酿造中, 通常以大米为辅料、外加酶制剂来生产麦芽汁^[6-9], 但大米添加的比例偏高时, 往往会导致麦汁中 α -氨基氮偏低而影响啤酒酵母的发酵^[10]。虽然

也有用小麦、大麦、淀粉等为辅料生产麦芽汁的报道, 但使用燕麦作辅料的报道极少。本试验选用非淀粉多糖 (NSP) 酶、辅料燕麦、酶的添加阶段和作用时间 4 因素为研究对象, 采用正交试验设计, 研究它们对麦芽汁理化指标的影响, 从而为燕麦、非淀粉多糖酶在啤酒生产中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

燕麦 本地带壳燕麦, 市场自购;

麦芽 国产, 由百惠啤酒公司邵阳分公司提供;

NSP 复合酶: 主要成分与酶活为纤维素酶 ≥ 2000

基金项目: 湖南省教育厅科技基金资助项目 (04C586)。

收稿日期: 2005-08-10

作者简介: 余有贵 (1964-), 男, 湖南人, 副教授, 硕士, 主要从事添加剂的开发与应用。

u/g, β -葡聚糖酶 ≥ 4000 u/g, 木聚糖酶 ≥ 16000 u/g, 果胶酶 ≥ 400 u/g

化学试剂 磷酸、盐酸、氢氧化钠、碘化钾等,均为分析纯。

1.2 主要仪器

HH-4 型恒温水浴锅 广州富城生产;

101-1 型恒温干燥箱 沪南电炉烘箱厂生产;

LNK-871 型快速自动蒸馏器:江苏省宜兴市科教仪器厂生产;

LNK-872 型多功能快速消化器:江苏省宜兴市科教仪器厂生产。

1.3 试验设计

1.3.1 工艺流程

燕麦 $\rightarrow$ 粉碎 $\rightarrow$ 配料 $\rightarrow 70^{\circ}\text{C}$ (30 min) $\rightarrow 100^{\circ}\text{C}$ 10 min

↓

麦芽粉 $\rightarrow$ 配料 $\rightarrow$ 浸渍 ($38\sim 40^{\circ}\text{C}$, 30 min) $\rightarrow$ pr 休止 I (45°C , 30 min) $\rightarrow$ pr 休止 II (55°C , 30 min) $\rightarrow$ 第一段糖化 (63°C , 40 min) $\rightarrow$ 第二段糖化 (68°C , 至碘液反应合格) $\rightarrow$ 升温 ($76\sim 78^{\circ}\text{C}$) $\rightarrow$ 过滤 $\rightarrow$ 洗糟 残糖为 $1\sim 1.5$ Bx $\rightarrow$ 混合麦汁

1.3.2 工艺要点

原料粉碎 麦芽过 20 目,燕麦过 80 目;

料水比 辅料料水比为 1:5,麦芽料水比为 1:4;

温度和 pH 值 在糖化过程中选择最适的温度与 pH 值,充分发挥各主要酶的作用效果^[10]。

1.3.3 试验设计

本研究选用 4 因素 4 水平进行正交试验设计 见表 1,按正交表 $L_{16}(4^5)$ 安排试验,研究不同的因素水平对麦汁特性 (过滤时间和糖化时间)、麦汁组成 (还原糖、 α -氨基氮) 和麦汁收得率的影响,从而找到合适的燕麦麦汁制备工艺条件。

表 1 因素水平正交试验

水平	因素			
	A(酶的添加量, %)	B(添加阶段, $^{\circ}\text{C}$)	C(作用时间, min)	D(辅料添加量, %)
1	0	低温浸渍, 38	17	30
2	0.12	pr 休止 I, 45	20	35
3	0.24	pr 休止 II, 55	23	40
4	0.36	I 段糖化, 63	26	45

1.4 分析与统计方法

所检测的指标除糖化时间在‘第二段糖化’时取样外,其他均为‘混合麦汁’取样。

糖化时间 按文献[11]测定,用 min 表示;

过滤速度 按文献[11,12]测定,用 min 表示;

还原糖 按文献[11]中的直接滴定法测定,用 g/100 mL 麦芽汁表示;

α -氨基氮 按文献[11]中的双指示剂甲醛滴定法测

定,用 mg/L 表示;

麦汁收率 按文献[11]计算,用百分比 (%) 表示;

统计方法:试验的结果采用 SAS6.12 软件的 GLM 方法进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同因素水平对麦汁特性的影响

按试验设计测定 4 因素 4 水平对麦汁过滤时间和糖化时间的影响,结果见表 2。

表 2 不同因素水平对麦汁特性的影响

水平	因素							
	过滤时间(min)				糖化时间(min)			
	A	B	C	D	A	B	C	D
1	66.25 ^a	41.25	44.25	28.25	157.75 ^a	109.50	112.75	100.25
2	34.75 ^{ab}	32.75	44.00	41.00	111.75 ^b	104.25	110.25	105.75
3	29.00 ^b	33.50	37.50	42.50	88.25 ^{bc}	110.25	107.25	111.00
4	25.25 ^b	47.50	29.25	43.50	78.00 ^c	111.75	105.50	118.75

注:①表中数据为平均值;②同因素的同行中肩标有不同小写字母者为差异显著 ($p<0.05$), 标有相同字母或未标字母者为差异不显著 ($p>0.05$)。表 3, 表 4 同。

从表 2 的方差分析结果可以看出,①添加一定量的 NSP 复合酶能缩短麦汁的过滤时间 ($p<0.05$) 和糖化时间 ($p<0.05$)。麦汁的糖化时间和过滤时间会随酶添加量的增加而缩短,当 NSP 复合酶添加量分别达到 0.12% 和 0.24% 时,麦汁的糖化时间和过滤时间均可显著缩短 ($p<0.05$);②NSP 复合酶的添加阶段对麦汁过滤时间和糖化时间的影响效果不显著 ($p>0.05$),但均以蛋白质休止的第一段添加 NSP 复合酶为最佳,因其过滤速度相对最快和糖化时间相对最短;③NSP 复合酶的作用时间对麦汁过滤时间和糖化时间的影响效果不显著 ($p>0.05$),但麦汁过滤时间和糖化时间会随着酶的作用时间延长而缩短;④燕麦添加量对麦汁过滤时间和糖化时间的影响效果不显著 ($p>0.05$),但麦汁过滤时间和糖化时间会随着燕麦量的增加而延长。

从各因素极差的大小可知,影响麦汁过滤时间和糖化时间的主次因素排序分别为 $A>D>C>B$ 和 $A>D>B>C$ 。从两者综合来看,NSP 复合酶的添加量对麦汁过滤时间和糖化时间影响最大,其次是辅料燕麦的添加量。

燕麦的细胞壁含有较多的非淀粉多糖 (MSP),其中 β -葡聚糖含量为 3.14%~7.43%^[5,13],也含有少量蛋白质、酚类和脂肪酸等物质。这些物质通过氢键或共价键相互交联结合共同构成细胞壁结构,支持和保护细胞内容物。其中,纤维素主要形成细胞框架结构,而以阿拉伯木聚糖和 β -葡聚糖为主的半纤维素及果胶等基质多糖,将纤维素骨架包围起来,起填充和连接作用,细胞内容

物在细胞壁的包裹之中。NSP 在糖化过程中吸收水分而变得膨胀和粘稠,因此,随着燕麦量的增加,麦汁粘度随之增加而过滤速度降低^[4]。在燕麦为辅料的麦芽汁制备过程中加入 NSP 复合酶后,木聚糖酶和 β -葡聚糖酶降解相应的底物,从而降低了麦汁的粘度,加快麦汁过滤而使过滤时间缩短。同时,细胞壁的瓦解,释放出来的淀粉能迅速与麦芽中的淀粉水解酶充分接触而水解,从而缩短糖化时间^[5]。

2.2 不同因素水平对麦汁组成的影响

按试验设计测定 4 因素 4 水平对麦汁中 α -氨基氮和还原糖含量的影响,结果见表 3。

表 3 不同因素水平对麦汁组分的影响

水平	因素							
	α -氨基氮含量(mg/L)				还原糖含量(g/100 mL)			
	A	B	C	D	A	B	C	D
1	134.71 ^c	204.57 ^b	201.45	216.10 ^a	7.34 ^b	8.41	7.73	8.37
2	187.34 ^b	216.39 ^a	205.33	201.56 ^b	8.13 ^{ab}	8.22	8.14	8.21
3	247.54 ^a	202.85 ^b	206.27	199.67 ^b	8.56 ^a	8.10	8.36	8.16
4	252.01 ^a	187.81 ^b	208.56	204.27 ^b	8.74 ^a	8.05	8.54	8.04

从表 3 的方差分析结果可以看出,①添加一定量的 NSP 复合酶能提高麦汁中 α -氨基氮含量 ($p<0.05$)和还原糖含量 ($p<0.05$)。麦汁中 α -氨基氮和还原糖含量会随着酶添加量的增加而增加,当 NSP 复合酶添加量分别达到 0.12 % 和 0.24 % 时,麦汁中 α -氨基氮和还原糖含量均可显著提高 ($p<0.05$) ;②NSP 复合酶的添加阶段对麦汁中 α -氨基氮含量有显著影响 ($p<0.05$),而对还原糖含量的影响效果不显著 ($p>0.05$)。其中以蛋白质休止的第一阶段添加 NSP 复合酶为最佳,因其 α -氨基氮含量较其他阶段加酶显著提高 ($p<0.05$),还原糖含量居第二位而与居第一位的浸渍阶段差异不显著 ($p>0.05$) ;③NSP 复合酶的作用时间对麦汁中 α -氨基氮和还原糖含量的影响效果不显著 ($p>0.05$),但麦汁中 α -氨基氮和还原糖含量会随酶的作用时间的延长而增加 ;④燕麦添加量对麦汁中 α -氨基氮含量有显著影响 ($p<0.05$),而对还原糖含量的影响效果不显著 ($p>0.05$),麦汁中 α -氨基氮在燕麦量达到 35 % 以上时会显著减少 ($p<0.05$),还原糖含量会随着燕麦量的增加而减少 ($p>0.05$)。

从各因素极差的大小可知,影响麦汁中 α -氨基氮和还原糖含量的主次因素排序分别为 A>B>D>C 和 A>C>B>D。从两者综合来看,NSP 复合酶的添加量对麦汁中 α -氨基氮和还原糖含量影响最大,其次是酶的添加阶段。

燕麦含较高的蛋白质 (13.6 % ~16.1 %)^[1],NSP 复合酶作用的最适温度为 44~55 ℃^[7],在燕麦为辅料的麦芽汁制备过程中加入 NSP 酶后,纤维素酶和果胶酶能破

坏细胞壁,使细胞内容物充分释放出来,使一些交联于细胞壁中的蛋白质释放出来,在适宜的温度下,与麦芽中的淀粉酶和蛋白酶等水解酶充分接触而水解^{[4][5]},从而使麦汁中的 α -氨基氮和还原糖含量增加。

2.3 不同因素水平对麦汁收得率的影响

按试验设计测定 4 因素 4 水平对麦汁收得率影响的结果见表 4。

表 4 不同因素水平对麦汁收得率的影响 (%)

水平	因素			
	A	B	C	D
1	59.47 ^b	67.75	65.85	67.53
2	65.30 ^{ab}	68.60	66.32	66.51
3	70.48 ^a	66.98	68.20	69.12
4	73.94 ^a	66.14	68.81	66.01

从表 4 的方差分析结果可看出,①添加一定量的 NSP 复合酶能提高麦汁收得率 ($p<0.05$)。麦汁收得率会随着酶添加量的增加而增加,当 NSP 复合酶添加量达到 0.24 % 时,麦汁收得率可显著提高 ($p<0.05$) ;②NSP 复合酶的添加阶段对麦汁收得率无显著影响 ($p>0.05$)。其中以蛋白质休止的第一阶段添加 NSP 复合酶为最佳,因麦汁收得率较其他阶段加酶的高 ($p>0.05$) ;③NSP 复合酶的作用时间对麦汁收得率的影响效果不显著 ($p>0.05$),但麦汁收得率会随酶的作用时间的延长而增加 ;④燕麦添加量对麦汁收得率无显著影响 ($p>0.05$),其中以 40 % 相对较高,30 % 次之。

从各因素极差的大小可知,影响麦汁收得率的主次因素排序为 A>D>C>B,即 NSP 复合酶的添加量对麦汁收得率影响最大,其次是燕麦的添加量。

在燕麦为辅料的麦芽汁制备过程中加入 NSP 酶后,细胞壁的瓦解和麦汁粘度的降低,能促进细胞内容物与麦芽中各种水解酶的接触和水解,从而增加了麦汁中浸出物的含量,也就相应地提高了麦汁收得率。

3 结论

综合考虑各因素对麦汁特性、麦汁组成和麦汁收得率的影响,在本试验条件下,确定外加酶制备燕麦麦汁的最佳工艺条件为 NSP 复合酶添加量为 0.24 % ,燕麦添加量为 30 % ,NSP 复合酶在蛋白质休止的第一阶段 (45 ℃)添加,其作用时间为 23 min。

参考文献 :

[1] 黄相国,葛菊梅.燕麦的营养成分与保健价值探讨[J].麦类作物学报,2004,24(4):147-149.
[2] 董吉林,申瑞玲.裸燕麦麸皮的营养组成分析及 β -葡聚糖的提取[J].山西农业大学学报,2005,(1):70-73.

(下转 71 页)

由于微生物蛋白酶中的中性蛋白酶对大麦蛋白质的分解效果与麦芽内源蛋白质分解酶的分解效果类似而成为啤酒工业中外加蛋白酶制剂的首选蛋白酶种。

在发泡酒生产中,中性蛋白酶的参与是非常重要的,其重要性突出地表现在两个方面:①释放、激活大麦中的 β -淀粉酶。中性蛋白酶的加入可以使大麦中部分非活性的 β -淀粉酶摆脱与醇溶蛋白相联接的双硫键($S-S$)的束缚,能够游离于糖化体系中,并因此而恢复活性。这个过程的实现可以减少甚至取消外加的 β -淀粉酶系;②分解大麦蛋白质,提供组成合理的麦汁氮区分。发泡酒由于麦芽的使用比例很低,导致麦汁中 α -氨基氮的水平降低,这对酵母的生长和发酵都有不利的影响,而大麦的蛋白质组成与麦芽相似,在外加蛋白酶的作用下可以补充麦汁中的 α -氨基氮含量,以提高麦汁的酿造性能,促进麦汁的可发酵性。

3.3 非淀粉多聚糖水解酶

非淀粉多聚糖水解酶是指 β -葡聚糖酶、戊聚糖酶、纤维素酶等非淀粉多糖水解酶系。

β -葡聚糖酶和戊聚糖酶的作用是一方面弥补麦芽中内源多聚糖水解酶系的活力不足和耐热性不好;另一方面对大麦中高含量的 β -葡聚糖、戊聚糖进行同时降解,破坏大麦细胞的细胞壁结构,促进细胞内容物的溶出,并因此提高细胞内容物与其他酶类分子的接触几率,在降低麦汁粘度的同时,提高大麦的原料利用率。

应当注意的是,随着辅料品种的变化,可选用的非淀粉多聚糖水解酶系是有变化的。

3.4 其他应考虑酶系

首先是脱脂酶的选择,该酶专一性地分解淀粉 α -1,6糖苷键,可以在很大程度上配合 α -淀粉酶、 β -淀粉酶的作用,尤其是与 β -淀粉酶的协同作用可以获得含量很高的麦芽糖组成。当对麦汁的糖类组成要求较高

时,应当考虑这类酶系的参与。目前,可供选择的脱脂酶有普鲁兰酶和异淀粉酶。

其次可以适当的考虑葡萄糖淀粉酶的使用,由于葡萄糖淀粉酶的作用产物是葡萄糖,并不符合啤酒生产的需要,但是由于它可以在糖化困难时快速协助、促进淀粉的转化,加快糖化终点的到达,因此,在糖化出现困难时可以考虑适当添加葡萄糖淀粉酶,但一定要控制添加量。

4 讨论

4.1 发泡酒的研制与生产对我国啤酒业提高生产效率、降低生产成本具有积极的意义。发泡酒的实质是高辅料啤酒,由于辅料比例的大幅度上升,会导致糖化体系中酶系水平的整体下降,并直接影响淀粉、蛋白质等物质的分解转化,因此,发泡酒的生产必须借助于外加酶工艺。在一定程度上可以认为,发泡酒是外加酶工艺发展的产物。

4.2 在发泡酒的辅料选择中,大麦是最佳的辅料源,这基于大麦与麦芽化学组成的近似性,这种近似性提供了与麦芽麦汁接近的麦汁组成。但是大麦作为辅料也同时具有较麦芽更高的 β -葡聚糖含量,对麦汁的粘度影响很大,并且大麦未经发芽,蛋白质等物质的分解都需要在糖化时间内完成,所以与传统麦汁的制备相比,糖化任务就繁重得多,这是大麦辅料的缺点。

4.3 以大麦为辅料的发泡酒生产中,外加酶制剂中主要酶系要考虑的是 α -淀粉酶、蛋白酶及非淀粉多聚糖水解酶的酶系活力和组成。其次,辅助酶系中可以考虑脱脂酶、葡萄糖淀粉酶的选用。

参考文献:

- [1] 酶制剂在食品工业中的应用[M].南昌:江西出版社,1984.
- [2] 管敦仪.啤酒工业手册(修订版)[M].北京:中国轻工业出版社,1998.
- ***
- [3] 马德泉,田长叶,杨海鹏.裸燕麦营养与人类健康[J].青海农林科技,1998,(1):33-35.
- [4] 中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所.食物成分表[M].北京:人民出版社,1991.
- [5] 尹黎明,石元刚.燕麦对脂肪代谢影响的研究进展[J].解剖学杂志,2004,(5):345-347.
- [6] 余有贵,蒋盛岩,梁莲花,等.非淀粉多糖酶改善麦汁品质的研究[J].酿酒科技,2005,(4):65-67.
- [7] 余有贵,杨再云.酶制剂在啤酒酿造中的应用[J].酿酒,2004,(5):46-49.
- [8] 张世千.外加酶糖化方法的进展[J].酿酒科技,2001,(9):45-47.
- [9] 周保卫,周景宇,黄河.复合酶在啤酒生产上的应用研究[J].酿酒,1999,(3):67-70.
- [10] 顾国贤.酿造酒工艺学(第二版)[M].北京:中国轻工业出版社,1996.
- [11] 张学群,张柏青.啤酒控制工艺及检测手册[M].北京:中国轻工业出版社,1993.
- [12] 管敦仪.啤酒工业手册(中)[M].北京:中国轻工业出版社,1986.
- [13] 邓万和,王强,吕耀昌,等.品种和环境效应对燕麦 β -葡聚糖含量的影响[J].中国粮油学报,2005,(2):30-32.
- [14] 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,(3):1-2.
- [15] 郭勇.酶工程[M].北京:中国轻工业出版社,2003.

(上接第68页)