

不同糖化工艺中可发酵性糖的 HPLC 动态分析

郑 昕

(深圳金威啤酒有限公司, 广东 深圳 518019)

摘 要: 糖类是啤酒酿造过程中非常重要的一类物质。研究通过提高糖化温度和缩短糖化时间进行的 3 次糖化工艺试验, 制备麦汁的可发酵性糖组成; 应用高效液相色谱 (HPLC) 法对 3 种工艺在发酵过程中可发酵性糖的变化进行了动态研究分析, 实现对啤酒生产过程糖组分的有效监控。

关键词: 啤酒; 可发酵性糖; HPLC; 动态分析

中图分类号: TS262.5; TS261.4; O657.72

文献标识码: B

文章编号: 1001- 9286(2008) 08- 0086- 03

HPLC Dynamic Analysis for Fermentative Saccharides by Different Saccharificaion Techniques

ZHENG Xin

(Kingway Brewery Co.Ltd., Sherzhen 518019, China)

Abstracts: Saccharide is the most important substance in beer brewing. In this study, through the increasing of saccharification temperature and the shortening of saccharification time, three saccharification techniques tests were carried out to detect the compositions of the fermentative saccharides. The dynamic analysis of the change of fermentative saccharides during the fermentation in the three tests was done by HPLC, which had realized efficient monitoring of saccharide composition in beer production.

Key words: beer; fermentative saccharides; HPLC; dynamic analysis

在啤酒的酿造过程中, 对麦汁、发酵液以及最终成品啤酒的各项指标的分析和监控非常重要, 糖类物质是其中必不可少的一项。因为麦汁浸出物大约 90 % 是糖分, 其中葡萄糖和果糖约占糖类物质的 10 %, 蔗糖约占 5 %, 麦芽糖占 45 %~50 %, 麦芽三糖 10 %~15 %; 还有少量的戊糖、异麦芽糖等低聚糖占 3 %~5 %^[1]。经酵母的糖类代谢, 可发酵糖约 96 % 发酵生成乙醇和二氧化碳, 2 %~2.5 % 转化为其他发酵副产物, 它们构成啤酒的主要风味物质^[2]。因此监控发酵过程中酵母利用糖类物质的情况, 对稳定和控制啤酒的质量具有重要意义。

本文探讨了通过提高糖化温度和缩短糖化时间进行的 3 次糖化工艺试验中, 制备麦汁的可发酵性糖组成情况, 并着重应用高效液相色谱 (HPLC) 的方法对 3 种工艺在发酵过程中可发酵性糖的变化进行了动态分析和比较, 从而实现了啤酒生产过程糖组分的有效监控。

1 材料与方法

1.1 主要仪器设备

Hewlett Packard 1100 series; 自动进样器; 四元泵; 在线脱气装置; 柱温箱 COLCOM: G1315B 型; 示差检测器 RID; 色谱柱: 碳水化合物柱 ZORBAX; 350 型精密 pH 计, 瑞士 Mettler 公司; 混合纤维素酯微孔滤膜; 微孔过滤器; Millipore Synergy185 超纯水制备仪。

1.2 主要试剂

乙腈(色谱纯); 果糖, 葡萄糖, 蔗糖, 麦芽糖, 麦芽三糖标准品(HPLC 级)。

1.3 实验方法

1.3.1 麦汁、发酵液常规指标分析

原浓、发酵度: 用啤酒全自动分析仪分析;

糖: 非糖: 滴定法;

双乙酰: GB4928, 蒸馏法;

外观糖度: 糖度计法。

1.3.2 糖分 HPLC 分析

1.3.2.1 标准样品配制

按照麦汁中各糖类成分的组成配制混合标准样品, 用超纯水溶解并定容。配制成糖标样系列溶液及糖混合标准样品溶液。糖混合标准样品溶液浓度(见表 1)。

1.3.2.2 流动相的配制

收稿日期: 2008- 04- 22

作者简介 郑昕(1978-), 女, 工程师, 硕士研究生, 现从事啤酒工艺技术方向的研究。

表 1 糖的混合标准样品溶液浓度

名称	浓度 (g/100 mL)	名称	浓度 (g/100 mL)
果 糖	0.1976	麦芽糖	5.494
葡萄糖	0.8052	麦芽三糖	0.7741
蔗 糖	0.2051		

流动相 A: 纯水(蒸馏水经 MILLIPORE 纯水制备仪制得);

流动相 B: 乙腈(色谱级);

流动相 A 流动相 B = 25 75。

1.3.2.3 样品预处理

取一定量的麦汁或发酵液离心(10000 r/min, 10 min), 取上清液在室温 $20 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 平衡后, 先经滤纸过滤, 再经 $0.45\ \mu\text{m}$ 混合纤维树脂膜过滤, 直接进样^[3]。

1.3.2.4 色谱分析条件

流速: 2 mL/min; 进样量: 8 μL ; 柱温: 45°C 。

1.3.3 糖定性定量方法

1.3.3.1 糖组分的定性

以保留时间、样品加标来进行定性。

1.3.3.2 糖的定量

将各糖的标准系列溶液在上述色谱条件下进样, 以峰面积外标法定量, 得到 6 种糖标准曲线方程^[4]。

1.3.4 糖化工艺试验

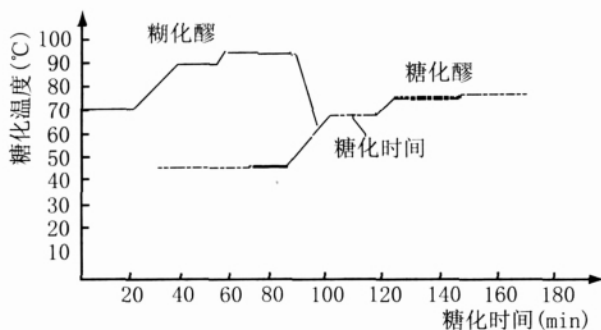


图 1 糖化工艺曲线

本研究主要以生产 12 度麦汁为例, 针对并醪后的糖化温度以及糖化时间的改变进行试验, 具体见表 2。为了便于平行比较, 发酵工艺不变。对主酵期间发酵液各项指标进行分析, 每天取样。

表 2 不同糖化工艺参数比较

名称	糖化温度($^{\circ}\text{C}$)	糖化时间(min)
工艺 1	64	20
工艺 2	64	10
工艺 3	66	10

2 结果与分析

2.1 糖组分 HPLC 方法的定性分离

将 1.3.2.1 中配制的标准溶液进行 HPLC 分离, 然

后通过分别对 6 种糖组分加标确定其保留时间, 结果见图 2。

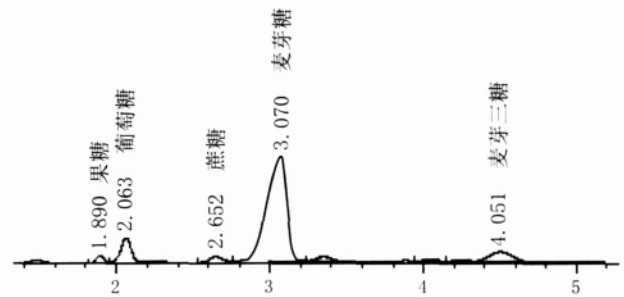


图 2 标准糖溶液 HPLC 分离效果图

2.2 糖组分 HPLC 方法测定定量外标工作曲线

按麦汁中的几种糖类物质(葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、麦芽三糖)的比例配制混合标样, 并利用自动进样器按比例进行在线稀释, 得到 3 个不同浓度梯度的标准溶液 HPLC 图谱。按峰面积积分绘制标准曲线, 结果见表 3。

表 3 糖标准曲线的回归方程

有机酸	回归方程	相关系数
果 糖	$y=22356.3232x+887.63426$	0.9950
葡萄糖	$y=28384.0931x+7860.7446$	0.9931
蔗 糖	$y=25795.8925x-538.75317$	0.99143
麦芽糖	$y=30069.6512x+24819.377$	0.99710
麦芽三糖	$y=26452.2919x-3411.8491$	0.99601

由表 3 可知, 线性关系良好, R^2 均大于 0.99。说明以此作为定量分析的依据是准确可信的。

2.3 麦汁糖组分 HPLC 分析

对上述 3 种工艺试验生产的麦汁进行 HPLC 分析。结果见表 4。

表 4 3 种糖化工艺试验麦汁的糖组分 (g/100 mL)

名称	工艺 1	工艺 2	工艺 3
果 糖	0.18	0.175	0.139
葡萄糖	1.144	0.995	0.674
蔗 糖	0.192	0.159	0.127
麦芽糖	6.21	5.805	4.571
麦芽三糖	1.264	1.222	0.682
可发酵性糖	8.99	8.356	6.193
糖/非糖	1 : 0.29	1 : 0.31	1 : 0.34

由表 4 可知, 通过缩短糖化时间和提高糖化温度, 均对糖化过程中分解产生的可发酵性糖含量有一定的影响。其中提高糖化温度对可发酵性糖含量的减少作用更为明显。5 种可发酵性糖含量均有不同程度的降低, 糖/非糖呈现上升趋势。

2.4 发酵过程中糖组分的动态分析

对上述 3 种工艺试验所得麦汁的发酵情况进行跟

踪。每隔 24 h 取样 1 次,进行外观糖度、原浓、发酵度、酵母数等常规指标的检测。糖组分的 HPLC 动态分析通常也是每天取样测定。至主酵结束停止检测,即双乙酰达标、外观糖度降至工艺要求水平并开始冷却降温。表 5 是主酵结束当天,发酵液各项指标以及糖组分分析结果。

表 5 主酵结束时发酵液各项指标

名 称	工艺 1	工艺 2	工艺 3
主酵结束时间 (d)	7.5	8	9
酵母数峰值 (千万)	6.5	5.7	4.6
发酵度 (%)	67.4	66.6	64.9
双乙酰 (mg/L)	0.06	0.06	0.07
外观糖度 (° Bx)	2.4	2.4	2.6
果 糖	0.012	0.010	0.010
葡萄糖	0.105	0.086	0.051
蔗 糖	未检出	未检出	未检出
麦芽糖	0.064	0.057	0.043
麦芽三糖	0.118	0.092	0.079

从表 5 可知,由于糖化工艺的改变使得可发酵性糖含量发生了变化。因此,在发酵过程中,工艺 3 的发酵速度显著减慢,发酵时间延长,酵母数峰值下降,说明酵母的增殖倍数降低。另外,由于工艺 3 的非糖比例上升,不可发酵性糖含量增加,因此外观糖度降到 2.4° Bx 相对困难,发酵度也有所下降。在对糖组分的 HPLC 分析过程中,由于主酵结束时,酵母对于各种可发酵性糖的利用基本完成,蔗糖的响应已接近基线,因此未能明确定量。

3 种工艺在发酵过程中对单糖(葡萄糖)、二糖(麦芽糖)以及三糖(麦芽三糖)的利用情况,呈现相对一致性的变化趋势。如工艺 1(图 3),从图 3 中可以看出,单糖在发酵第 3 天基本已经被利用完;与此同时麦芽糖开始大量被酵母同化,麦芽三糖的利用速度较二糖相对缓慢;至主酵结束,可发酵性糖已基本利用完毕。

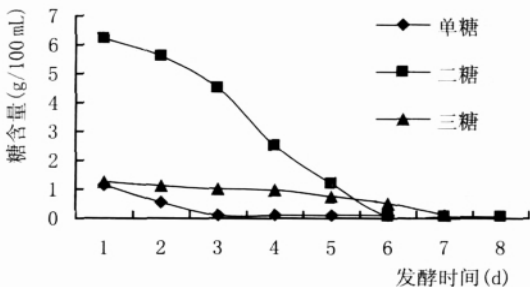


图 3 工艺 1 发酵过程中各种糖利用情况

而工艺 3(见图 4),由于较工艺 1 和工艺 2 的单糖含量下降,特别是葡萄糖的减少,使得对于单糖的利用加快,发酵开始的 1~2 d 内,迅速被利用。因此,二糖的

利用在 2~3 d 速度加快,但由于酵母增殖倍数的降低,主酵后期时间延长。

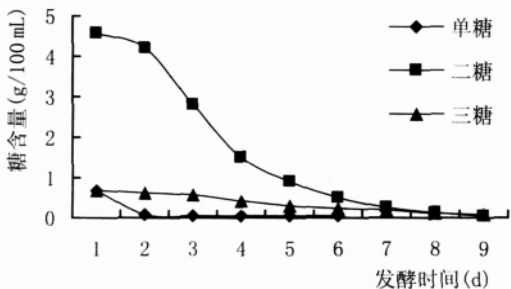


图 4 工艺 3 发酵过程中各种糖利用情况

3 结论

3.1 运用 HPLC 方法,成功地将麦汁和发酵液中的可发酵性糖进行有效分离及定性和定量分析,结果准确。

3.2 通过提高糖化温度和缩短糖化时间进行的 3 次糖化工艺试验,应用 HPLC 方法对制备麦汁进行分析可知,提高糖化温度对可发酵性糖含量的减少作用更为明显。3 种工艺对比,5 种可发酵性糖含量均有不同程度的降低,糖/非糖呈现上升趋势。

3.3 由于可发酵性糖的变化,3 种工艺的发酵过程有所区别,主要体现在发酵速度减慢、主酵时间延长、酵母峰值下降等。而利用 HPLC 对 5 种可发酵性糖的动态跟踪情况表明,3 种工艺对 5 种糖的利用有所区别。工艺 3,由于较工艺 1 和工艺 2 的单糖含量下降,特别是葡萄糖的减少,使得对于单糖的利用加快,发酵开始的 1~2 d 内,迅速被利用。二糖的利用在 2~3 d 速度加快,但由于酵母增殖倍数的降低,主酵后期时间延长。

3.4 通过改变糖化工艺,特别是提高糖化温度,能够使麦汁中的糖组分比例更加合理,有效地降低发酵度,对于减少啤酒的醇厚感有一定积极的作用。

3.5 本研究证实,运用高效液相色谱(HPLC)法动态分析发酵过程中的可发酵性糖,对实现啤酒生产过程中糖组分变化的监控具有重要的意义。

参考文献:

- [1] Wolfgang Kurze. 啤酒工艺实用技术[M].北京:中国轻工业出版社,1998.
- [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] 林艳,单凌青,王成红,单连菊.高效液相色谱法测定啤酒、发酵液和麦汁中的可发酵糖和有机酸[J].分析化学,2000,(4): 524-524.
- [4] 魏玲. HPLC 测定麦汁和啤酒中的糖类化合物[J].酿酒,1994,(1): 26-29.