

麦芽酵母超前絮凝多糖 对啤酒发酵液质量的影响

刘源源¹, 汪东风^{1,*}, 胡维胜^{1,2}, 孙继鹏¹, 徐莹¹

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003;

2. 福建雪津啤酒有限公司, 福建莆田 351111)

摘要:研究了麦芽 PYF(酵母超前絮凝)多糖对啤酒发酵液质量的影响。测定了各实验组发酵液的发酵度、酒精含量、风味物质及有机酸含量,发现 PYF 多糖发酵可使最终发酵液中悬浮的酵母数量降低,发酵液的发酵度和酒精含量降低,双乙酰和乙醛含量升高,高级醇、酯类、二甲基硫和有机酸含量降低。

关键词: PYF 多糖, 发酵度, 高级醇, 酯类, 有机酸

Effects of premature yeast flocculation polysaccharide in malt on beer fermentation

LIU Yuan-yuan¹, WANG Dong-feng^{1,*}, HU Wei-sheng^{1,2}, SUN Ji-peng¹, XU Ying¹

(1. College of Food Science and Engineering of Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Fujian Sedrin Brewery Group Corporation Research Center, Putian 351111, China)

Abstract: The effects of PYF polysaccharide in malt on beer fermentation were studied. The fermentation degree, alcohol content, the content of flavor compounds and organic acid in beer fermentation liquid were determined. Results showed that the quantity of suspended yeast cells decreased significantly, the fermentation degree and alcohol content decreased, the content of diacetyl and acetaldehyde increased, the content of higher alcohols, esters, DMS and organic acids decreased.

Key words: PYF polysaccharide; fermentation degree; higher alcohols; esters; organic acids

中图分类号: TS261.1⁺1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)06-0153-03

酵母超前絮凝(Premature Yeast Flocculation, PYF)是指在麦汁营养物质消耗完之前,啤酒酵母出现过早絮凝的一种现象,是啤酒发酵中经常遇到的技术问题。麦芽 PYF 多糖存在于麦芽中,可与酵母表面带负电荷的组分结合,甚至破坏膜的完整性,从而促进酵母超前絮凝。Koizumi^[1]和 Herrera^[2]研究发现,麦芽 PYF 多糖是由于麦芽收获季节潮湿或制麦工艺的影响,大麦自身保护机制产生的一种抵抗微生物侵袭的多糖生物大分子。Nierop^[3]研究认为,酵母超前絮凝会造成发酵原料的浪费,影响啤酒质量。Axcell^[4]研究认为,酵母超前絮凝会使发酵液中酵母浓度低,导致成品酒的真浓升高。但到目前为止,还没有关于 PYF 多糖对发酵影响的具体研究报道。本文中不同量的麦芽 PYF 多糖添加到发酵液中,考查其对啤酒发酵度、酒精含量、酵母数、风味物质和

有机酸等相关指标的影响,以研究麦芽 PYF 多糖对啤酒质量的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

麦芽、麦汁、酿酒酵母 由英博雪津啤酒有限公司提供;邻苯二胺,正丁醇, LiCl 等。

DEAE-Sephadex A-25 离子交换树脂, Sephadex G-100 葡聚糖凝胶 进口分装;超滤仪 使用截留分子量为 10000Da 的中空纤维素超滤膜;EBC 糖化仪, SCABA 全自动啤酒分析仪, Agilent 6890 气相色谱仪, HTA HT-250D 气相液体/顶空自动进样器, Metrohm861 型离子色谱仪, 恒温模拟及数字输出式电导检测器, 853CO₂ 抑制器。

1.2 实验方法

1.2.1 麦芽 PYF 多糖的制备 采用 EBC 法制备协定麦汁,加入两倍体积的无水乙醇,离心收集沉淀。沉淀用水溶解后加入木瓜蛋白酶分解部分蛋白,再用 Sevag 法除去剩余蛋白;用截流分子量 10000Da 的中空纤维素超滤膜超滤;冷冻干燥后得到粗多糖样品。粗多糖经 DEAE-Sephadex A-25 柱层析,收

收稿日期: 2008-10-22 * 通讯联系人

作者简介: 刘源源(1985-),女,在读硕士研究生,研究方向:食品化学。

基金项目: 国家海洋行业公益性项目(200805038);福建雪津啤酒有限公司合作项目。

集并测定各组分 PYF 活力^[5],PYF 活力大的组分浓缩后再经 Sephadex G-100 葡聚糖凝胶柱进一步分离纯化,获得的主要组分即为麦芽 PYF 多糖。

1.2.2 麦汁中添加麦芽 PYF 多糖的发酵实验 将一定量的酵母接种到装有 10mL 麦汁的试管中,在 12℃ 下活化 12h,然后摇匀培养液,取出 1mL 发酵液接种到另一个装有 10mL 麦汁的试管中,在 12℃ 下培养 12h,摇匀后全部转入装有 300mL 麦汁的三角瓶中,在各三角瓶中分别加入质量为 0、1.5、3、4.5、6、9mg 的麦芽 PYF 多糖,加发酵栓并用硫酸封口,在 25℃ 下培养直至发酵完全。

1.2.3 麦汁发酵液中各物质含量的测定方法 血球计数板法测定麦汁发酵液中酵母含量;啤酒分析仪测定麦汁发酵液的发酵度和酒精含量;紫外分光光度法测定发酵液中双乙酰含量^[6]。

气相色谱法测定发酵液中风味物质含量,色谱条件为:色谱柱为 DB-WAXETR (30m × 0.53mm i.d., 1.0μm),载气为高纯氮气,柱流量 8mL/min (恒流);氢气 30mL/min;空气 400mL/min。进样口温度 150℃;检测器温度 250℃,柱初始温度为 40℃,保留 1min,后逐步升温至 180℃ 并保持 2.5min。样品制备:取 5mL 发酵液,加入 0.1mL 正丁醇内标液,立即封口,并在 60℃ 水浴中加热 10~15min 以杀死发酵液中残留的酵母菌,然后降至室温。

离子色谱法测定发酵液中有有机酸含量,色谱条件为:色谱柱为 Metrosep Organic Acids 有机酸柱 (250mm × 7.8mm × 10μm),Metrosep RP Guard 保护柱,温度为 20℃,背景电导控制在 50μs/cm 左右;淋洗液为 0.3mmol/L 硫酸和 15% 的丙酮混合溶液,流速 0.3mL/min;再生液为 10mmol/L 的 LiCl;进样量为 20μL。

2 结果与分析

2.1 PYF 多糖对麦汁发酵度和酒精含量的影响

发酵度和酒精含量是衡量啤酒发酵程度的重要指标,是衡量酵母对原料利用率最直观的参数。实验结果表明,添加了 PYF 多糖的实验组发酵度和酒精含量都低于空白组,且差异性显著 ($P < 0.05$)。随着添加 PYF 多糖量的增加,发酵度和酒精含量均呈下降趋势。当添加 PYF 多糖浓度达到 30mg/L 时,发酵度和酒精含量达 64.1% 和 4.80%,分别是空白组的 95.4% 和 94.9%。说明 PYF 多糖能促进酵母超前絮凝,悬浮酵母数量的下降导致了酒精产量及麦汁中可发酵性糖的利用率下降。

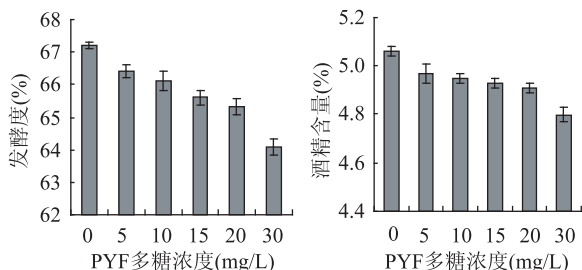


图1 PYF 多糖对发酵度和酒精含量的影响

2.2 PYF 多糖对发酵液中酵母数量及双乙酰含量的影响

当发酵结束时,液面以下 2cm 处发酵液中酵母菌的数量测定结果见图 2。结果显示,发酵液中酵母数量随着 PYF 多糖添加量的增加而减少,这验证了所提取的 PYF 多糖促进啤酒酵母絮凝的能力。

双乙酰是啤酒中主要的风味物质,其含量超过阈值会导致啤酒口味不纯,双乙酰含量是啤酒成熟的限制性指标,成熟啤酒的双乙酰含量的标准值为 $< 0.1\text{mg/L}$ ^[6]。结果发现(图 2),实验组的双乙酰含量高于对照组,且差异显著 ($P < 0.05$)。并且双乙酰含量随着 PYF 多糖添加量的增加而增加。当添加 PYF 多糖浓度达到 30mg/L 时,双乙酰含量为 0.1112mg/L,是空白组的 1.57 倍,并且没有达到成熟啤酒的标准。说明 PYF 多糖的添加促进了酵母的超前絮凝,发酵液中的酵母数量下降使得双乙酰的还原变得缓慢,所以在发酵终止时在发酵液中积累了较多的双乙酰,影响了啤酒的正常风味。

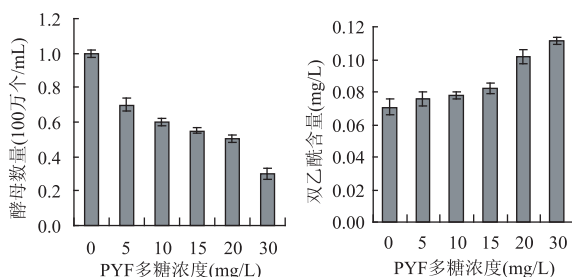


图2 添加 PYF 多糖对酵母数量和双乙酰含量的影响

2.3 PYF 多糖对高级醇和酯含量的影响

利用气相色谱,对添加了不同量 PYF 多糖的发酵液中高级醇含量和酯类含量进行测定,结果如图 3。

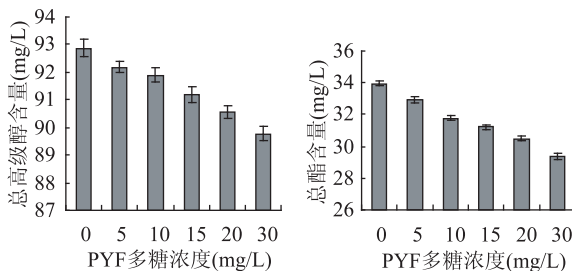


图3 PYF 多糖对总高级醇和总酯含量的影响

高级醇是啤酒中主要的香味和口味物质之一,它能促进啤酒具有丰满的香味和口味,并增加酒的协调性。而高级醇过量则给人腐臭感和刺激口味,也会“上头”引起头痛,是酒的主要杂味来源之一^[7]。实验结果表明(图 3),添加了 PYF 多糖后,总高级醇含量比空白有所降低,并且随着 PYF 多糖添加量的增加而降低,但降低的幅度比较小,差异不显著 ($P > 0.05$)。说明 PYF 多糖促使酵母絮凝后,产生的发酵副产物相应减少,但因为高级醇主要在主发酵期间产生,而超前絮凝多发生在主发酵末期或者主发酵结束后,所以 PYF 多糖的添加会使高级醇含量减小,但是幅度较小。

酯类是影响啤酒风味最重要的成分之一,是啤酒芳香的主要载体,酯类具有很强的果香味、溶剂味

和较强的穿透力。实验结果表明(图3),加入PYF多糖会使总酯类含量降低,且差异显著($P < 0.05$)。当添加PYF多糖浓度达到30mg/L时,总酯含量为29.4mg/L,是空白组的86.5%。说明PYF多糖促进酵母絮凝后,酯类的生成速度和数量都有所降低。

2.4 PYF多糖对乙醛和DMS(二甲基硫)含量的影响

乙醛是啤酒中生青味物质之一,含量超过阈值时会给人一种不愉快的粗糙苦味感甚至干辣味^[8],啤酒生产中要尽可能地降低乙醛含量。当发酵结束时对发酵液中的乙醛含量进行测定,结果显示(图4),添加了PYF多糖的发酵组乙醛含量比空白组高,且差异显著($P < 0.05$),并且随着添加量的增加而升高。说明PYF多糖促进了酵母的絮凝,影响了发酵后期酵母乙醇脱氢酶系对乙醛的还原,从而导致最终发酵液中总的乙醛含量升高。

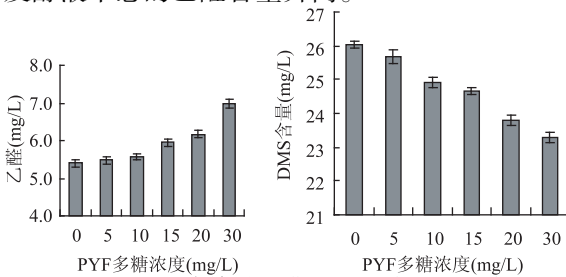


图4 PYF多糖对乙醛和DMS含量的影响

硫化物是啤酒发酵过程中不可缺少的微量成分,它在啤酒中含量很低,但对啤酒风味影响很大,其主要代表是DMS。实验表明(图4),添加PYF多糖的发酵组DMS相对于空白对照有明显的下降趋势($P < 0.05$)。当添加PYF多糖浓度达到30mg/L时,DMS含量为23.3mg/L,是空白组的89.4%。说明PYF多糖促进酵母絮凝后,DMS的生成受到了限制。

2.5 PYF多糖对有机酸含量的影响

有机酸是主要的呈味物质,啤酒中适量的酸使啤酒口感活泼、爽口,缺乏酸类则啤酒口感呆滞、粘稠、不爽口;过量的酸又使啤酒口感粗糙、不柔和、不协调,同时过量的酸也意味着啤酒发酵不正常,是污染产酸菌的标志^[9]。采用离子色谱法对发酵液中的有机酸(包括柠檬酸、苹果酸、琥珀酸、L-乳酸、甲酸、醋酸)含量进行测定。结果表明(图5),添加PYF多糖的发酵组总有机酸含量相对于空白对照有明显的上升趋势($P < 0.05$)。当添加PYF多糖浓度达到30mg/L时,有机酸含量为23.3mg/L,是空白组的1.19倍。说明PYF多糖促进酵母超前絮凝后,悬浮液中酵母数量降低,影响了酵母对丙酮酸、乳酸等有

机酸的进一步利用,从而使得发酵结束时积累较多的有机酸。

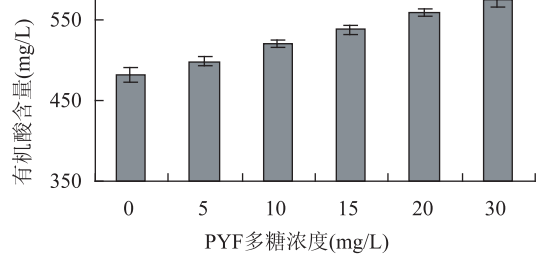


图5 PYF多糖对有机酸含量的影响

3 结论

在麦汁培养基中加入不同量的PYF多糖,经啤酒酵母厌氧发酵,考查PYF多糖对啤酒发酵的影响。结果表明,PYF多糖能降低发酵液中悬浮的酵母数量,减低发酵液的发酵度和酒精含量,从而导致对原料中营养成分利用不够充分,发酵不够完全。PYF多糖的添加还能造成一些风味物质的产生,双乙酰含量升高,高级醇、酯类、DMS和有机酸含量降低,发酵液中乙醛含量升高,这些会破坏啤酒发酵中风味物质的固有比例与含量范围,使得啤酒的口味变得不纯正,影响了啤酒的质量。

参考文献

- [1] H Koizumi, et al. Rapid and Sensitive Method to Measure Premature Yeast Flocculation Activity in Malt [J]. J Am Soc Brew Chem, 2005, 63(4): 147~150.
- [2] Herrera V E, et al. Induction of premature yeast flocculation by on polysaccharide fraction isolated from malt husk [J]. J Inst Brew, 1991, 97: 359~366.
- [3] S N E van Nierop, et al. Enzymatic Generation of Factor From Malt Responsible for Premature Yeast Flocculation [J]. J Am Soc Brew Chem, 2004, 62: 108~116.
- [4] Axcell B C, et al. Malt induced premature yeast flocculation [J]. Tech Q Master Brew Assoc Am, 2000, 37: 501~504.
- [5] 胡维胜,等. 快速、灵敏测定麦芽的酵母超前絮凝活力新方法[J]. 啤酒科技, 2006(9): 61~63.
- [6] Wlofgang kunze 著,湖北啤酒学校翻译组译. 啤酒工艺实用技术[M]. 中国轻工业出版社, 1998. 394~404.
- [7] 刘海兵. 高级醇对啤酒风味的影响及其在啤酒生产中的控制措施[J]. 酿酒, 2005, 32(1): 54~55.
- [8] 杨毅. 啤酒酿造过程中影响乙醛变化因素的研究[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(10): 25~30.
- [9] 向阳,等. 国内啤酒有机酸组成及其综合评价[J]. 食品科学, 2007, 28(1): 266~270.

(上接第152页)

机械, 1999(1): 15~16.

[3] 沙惠琴, 张彩莉. 米曲霉高产蛋白酶的工艺探索[J]. 中国酿造, 2007(9): 44~46.

[4] 史锋. 生物化学实验[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2002, 1.111~113.

[5] 活泼. 高温中性蛋白酶及其产生菌的初步研究[J]. 工业微生物, 2003(6): 30~34.

[6] 胡稳奇, 王磊. 米曲霉(*Aspergillus oryzae*) A-9005 酸性蛋

白酶的初步研究[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 1995(9): 80~84.

[7] 张淑娟. 米曲霉菌今野菌株所产蛋白酶性质的研究[J]. 中国调味品, 2001(11): 15~17.

[8] 周晓云, 张西宁. 地衣芽孢杆菌 A-57 碱性蛋白酶提取新工艺的探讨[J]. 科技通报, 1994(6): 365~368.

[9] 赵永芳. 生物化学技术原理及其应用[M]. 武汉大学出版社, 1994. 14~15.