

文章编号:1673-1689(2006)01-0070-04

麦汁的生物酸化技术

孙军勇, 李芸, 顾国贤

(江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 作者研究了以德氏乳酸杆菌为生产菌种, 以未添加酒花的麦汁作为培养基生产乳酸的麦汁生物酸化技术, 用于调节啤酒生产过程 pH 值。确定 5# 乳酸菌的最适生长温度为 42 °C, 最佳生物酸化麦汁质量分数为 14%。研究表明, 液体培养基的组成对该菌产乳酸有较大的影响。生物酸化麦汁调酸比约为 1:40 左右, 不会对成品啤酒风味产生太大的影响。

关键词: 麦汁; 生物酸化; 德氏乳酸杆菌

中图分类号: TS 262.5

文献标识码: A

Study on Biological Acidification of Wort

SUN Jun-yong, LI Yun, GU Guo-xian

(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Unhopped wort of beer production was used as a substrate to produce lactic acid by *Lactobacillus delbrueckii*, and to adjust pH during brewing. The result showed that, the optimal temperature of strain No. 5 was 42 °C, and the optimal wort concentration was 14% (w/w). The result showed that the composition of liquid media affected the lactic acid production. The ratio of biological acidified wort and wort was about 1:40, and the acidified wort did not affect beer flavor.

Key words: wort; biological acidification; *Lactobacillus delbrueckii*

由于啤酒酿造用水含 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} 、 OH^- 较多或由于麦芽质量差含酸性盐类太少, 不能使麦芽醪达到最佳 pH 值, 此时经常采用加酸的方法来改良。

国内主要使用食用级磷酸调节 pH 值, 但磷太多会引起酵母早衰。乳酸是中等弱酸, 添加时不会使 pH 值降得太低, 而且乳酸能使酒体丰满, 但使用太多会给啤酒带来青涩味^[1], 而进口乳酸口感较好, 但它的价格昂贵。利用啤酒厂的麦汁生产乳酸, 并以此调节麦汁 pH 值具有现实意义。

啤酒生产中乳酸菌污染是最常见和最严重的。

但德氏乳酸杆菌最高耐热温度是 63 °C, 在麦汁煮沸时就可被杀死。德氏乳酸杆菌对酒花中苦味物质也极为敏感, 一旦添加了酒花, 它也会死亡^[2]。

采用一种适于生物酸化技术的乳酸杆菌, 在酿造啤酒过程中就不用另外添加磷酸、乳酸或其它酸化剂来调节啤酒 pH 值, 能使糖化彻底并改善啤酒风味, 而且不会带来污染杂菌。

作者主要研究乳酸杆菌生物酸化麦芽汁用于调整啤酒发酵生产中的 pH 值。

收稿日期: 2004-12-23; 修回日期: 2005-03-02.

作者简介: 孙军勇(1976-), 男, 山东烟台人, 助教, 工学硕士。
万方数据

1 材料和方法

1.1 材料

5[#] 乳酸菌株:作者所在实验室保藏德氏乳酸杆菌;澳麦麦芽斯德林:山东烟台麦多利啤酒原料有限公司产品;卡拉胶(Kappa 型):上海成智啤酒原料有限公司产品。

1.2 麦汁培养基^[3]

1.2.1 液体麦汁培养基 糖化工艺曲线见图 1。麦汁质量分数为 12%。麦汁煮沸后 40 min 后添加 CaCl₂ 50 mg/L,单宁 25 mg/L,卡拉胶 30 mg/L,500 mL 三角瓶中装液量为 300 mL,0.05 MPa 灭菌 15 min。

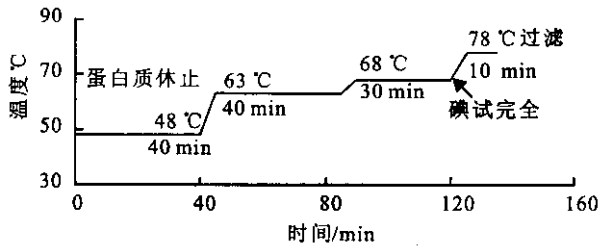


图 1 糖化工艺曲线

Fig. 1 The curve of mashing

1.2.2 固体麦汁斜面培养基 液体麦汁培养基中加质量分数 2.0% 的琼脂,加热溶解后于 0.1 MPa 灭菌 20 min。

1.3 MRS 培养基

按参考文献[4]进行。

1.4 种子培养基

采用质量分数 8% 的全麦麦汁,0.05 MPa 灭菌 20 min。

1.5 扩培用培养基

采用质量分数 6%~8% 的全麦麦汁,0.05 MPa 灭菌 20 min。

1.6 乳酸质量浓度测定^[5]

取生物酸化液 A mL(一般取 10 mL),加蒸馏水稀释 2~5 倍。滴定时采用质量分数为 1% 的溴百里酚蓝溶液作为指示剂,N 为稀释倍数,记录标准碱液的毫升数(V),乳酸质量浓度按下式计算。

$$\text{乳酸质量浓度(g/L)} = \frac{N \times V \times 0.09 \times 1000}{A}$$

2 结果与讨论

2.1 培养温度的确定

为了准确测定 5[#] 菌的最适生长温度,在各温度下连续取样测发酵液的 OD 值,确定 5[#] 菌的最适生长温度。万方数据

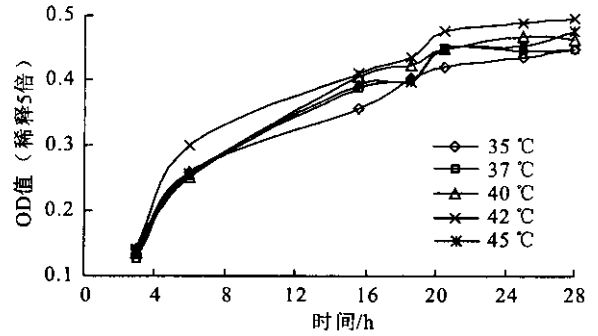


图 2 5[#] 菌不同温度下 OD 值的变化

Fig. 2 The OD changing curves of strain No. 5 at different temperature

从图 2 中可看出,5[#] 菌在 42 °C 时产酸量明显高于 48 °C 时的产酸量,42 °C 的 OD 值高于 48 °C 的 OD 值,说明菌体在 42 °C 下生长的较好。5[#] 菌发酵产生的双乙酰都比较低,42 °C 下双乙酰比 48 °C 低 0.02 左右,说明它的风味较好,不会对将来的定型麦汁产生不良影响。而且,图 2 中,42 °C 下的 OD 值曲线一直都比其它温度下的曲线高,所以确定 42 °C 为 5[#] 菌的最适生长温度。

2.2 培养麦汁质量分数的确定

采用不同的原麦汁质量分数,20% 的接种量,在 42 °C 下培养 24 h 测得的数据见表 1。

表 1 麦汁固形物质量分数对 5[#] 菌产生乳酸的影响

Tab. 1 The effect of wort concentration on lactic acid production by strain No. 5

麦汁固形物质量分数/%	双乙酰质量浓度/(mg/L)	OD 值	乳酸质量浓度/(g/L)	pH 值
10	0.042	0.348	4.83	3.63
12	0.042	0.404	5.25	3.58
14	0.038	0.325	5.50	3.63

从表 1 中得到麦汁固形物质量分数对菌体生长的影响,14% 时产酸量最高,其它各项指标也优于 12%,10% 的指标最差。一般啤酒厂的头号麦汁固形物质量分数为 14% 左右,所以最终采用 14% 的麦汁来作为 5[#] 菌的最佳生物酸化麦汁固形物质量分数。

2.3 接种量对发酵的影响

生产上一般采用连续法接种,即从发酵罐中放出一部分生物酸化液,接入相等量的新鲜麦汁中进行发酵。生产上的“接种量”是指旺盛发酵液占加入新鲜麦汁后总发酵液的比例。

5[#] 菌接种量不同时各项指标均有差异,接种量越大,产酸量越大。但菌浓在接种量为 30% 时最大,接种量 50% 时次之,接种量 20% 时菌浓最小,分

析可能是由于接种量太大时菌体容易死亡,所以造成了接种量 50% 时菌浓反而比接种量 30% 时小。双乙酰的量也随接种量的增大而增大,但 24 h 发酵实验后双乙酰达不到 0.1 mg/L,这对定型麦汁及成品啤酒的影响不会很大。考虑到实际的生产,确定接种量 30% 时最佳,即从旺盛生物酸化麦汁中取出总体积的 30%,然后加入同样体积的新鲜麦汁。

表 2 5# 菌不同接种量 42 °C 下培养 24 h 的各项指标

Tab. 2 Specifications of acidified wort by strain No. 5 cultured at 42 °C for 24hrs

接种量/%	双乙酰 质量浓度/ (mg/L)	OD 值	乳酸 质量浓度/ (g/L)	pH
20	0.042	0.404	5.25	3.58
30	0.0564	0.559	5.87	3.59
50	0.0696	0.417	6.02	3.53

2.4 5# 乳酸菌株 72 h 发酵实验

在 42 °C 下利用 5# 乳酸菌在质量分数为 14% 的全麦麦汁中,以 30% 的接种量进行 72 h 发酵实验,结果见图 3~6。

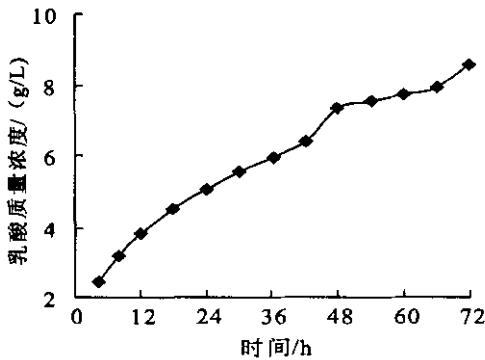


图 3 5# 菌 72 h 内乳酸质量浓度的变化

Fig. 3 The changing curve of lactic acid concentration by strain No. 5

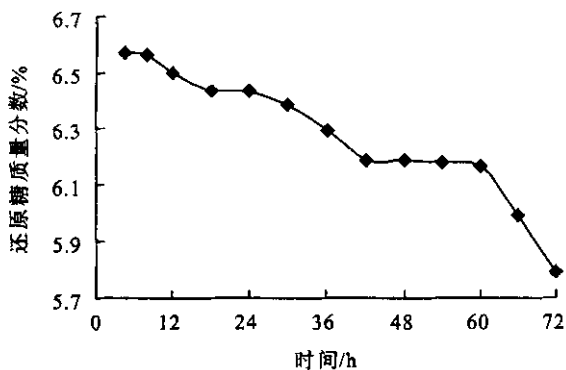


图 4 5# 菌 72 h 内还原糖质量分数的变化

Fig. 4 The changing curve of reduced sugar concentration by strain No. 5

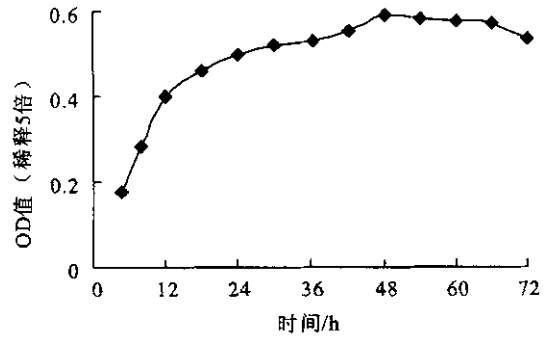


图 5 5# 菌 72 h 内 OD 值的变化

Fig. 5 The changing curve OD by strain No. 5

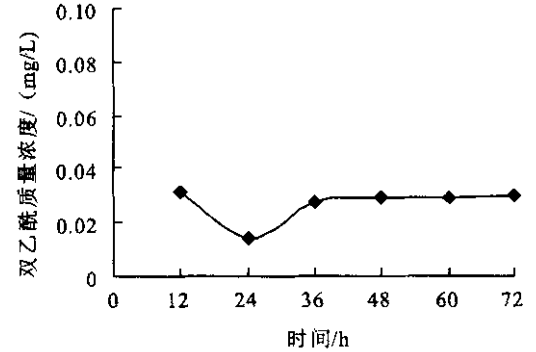


图 6 5# 菌 72 h 内双乙酰质量浓度的变化

Fig. 6 The changing curve of diacetyl by strain No. 5

从图 3~6 中可看出 5# 菌利用糖发酵产生乳酸,在 72 h 内乳酸的质量浓度由 2.0 g/L 上升到 8.0 g/L 以上,还原糖质量分数也平稳下降,但降幅不大。图 6 中双乙酰的量在 24 h 降到最低点,在 72 h 内没有超过 0.035 mg/L,所以 5# 菌对麦汁及啤酒的风味不会产生影响。

表 3 24,48,72 h 生物酸化液糖谱

Tab. 3 The sugar components of acidified wort cultured for 24,48,72 hrs, respectively

发酵液	麦芽糖 质量分数/%	葡萄糖 质量分数/%
原麦汁	56.39	11.95
24 h 发酵液	55.30	9.53
48 h 发酵液	55.66	8.42
72 h 发酵液	55.65	7.67

5# 菌对葡萄糖的利用情况比对麦芽糖的利用理想,葡萄糖质量分数一直在下降,原麦汁的葡萄糖质量分数是 11.95%,经过 72 h 发酵降到了 7.67%。相比而言,5# 菌对麦芽糖的利用不理想。

2.5 5# 菌对糖的利用

由于采用了各种措施,产酸量一直达不到要求的 0.8%,所以对 5# 菌对糖的利用情况进行了研究。

分别用以麦芽糖为唯一碳源的 MRS 液体培养基和用以葡萄糖为唯一碳源的 MRS 液体培养基从

菌浓与产乳酸量来研究 5# 菌的发酵情况。5# 菌分别接种于这两种培养基中,接种量均为 30%,分别置于 42 ℃ 与 45 ℃ 下培养 24 h,结果见表 4。

表 4 5# 在不同的温度下对不同碳源的利用

Tab. 4 The usage of different carbon sources at different temperature

发酵温度/℃	不同碳源	OD 值	乳酸质量浓度/(g/L)
42	麦芽糖	1.370	12.95
	葡萄糖	1.332	15.58
45	麦芽糖	0.711	8.99
	葡萄糖	0.604	10.18

5# 菌在 42 ℃ 的生长情况明显好于 45 ℃,从产酸量上来看该菌对葡萄糖的利用比对麦芽糖的利用要好,在液体 MRS 培养基中该菌的产酸量高于在麦汁中的产酸量。

2.6 提高产酸量的措施

由于产酸量一直不能提高到目标值,所以采用了在麦汁中添加胰蛋白胍和蔗糖的方法来试图改进乳酸菌营养改进发酵条件。5# 菌接种量均为 20%,在 42 ℃ 下培养 24 h,结果见表 5。

表 5 在麦汁中添加胰蛋白胍和蔗糖对乳酸产量的影响

Tab. 5 The effect of peptone and sucrose on production of lactic acid production

全麦麦汁固形物质量分数/%	OD 值	乳酸质量浓度/(g/L)
不添加	0.489	4.23
12 加质量分数 1% 胰蛋白胍	0.483	4.83
加质量分数 1% 蔗糖	0.441	4.10
不添加	0.519	5.25
14 加质量分数 1% 胰蛋白胍	0.541	5.35
加质量分数 1% 蔗糖	0.478	4.47

加入胰蛋白胍和蔗糖的效果不明显,产酸量没有预期的好,与全麦的相差不大,加入质量分数 1% 蔗糖的麦汁发酵反而不如全麦的不加添加物的产酸高。而加入了胰蛋白胍的质量分数 12% 全麦麦汁产酸量比单纯的质量分数 12% 全麦麦汁高 14%,

参考文献:

- [1] 顾国贤. 酿造酒工艺学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1996.
- [2] 路德维希·纳尔蔡斯(德). 啤酒厂麦芽汁制备工艺技术[M]. 孙明波译. 北京:中国轻工业出版社,1986.
- [3] 王博彦,金其荣. 发酵有机酸生产与应用手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000.
- [4] 庞钦. 酒精浓醪发酵酒糟液生产乳酸的研究[D]. 无锡:江南大学,2002.
- [5] 刘子良,齐志远,康卓. 生物酸化技术在啤酒酿造中应用的探讨[J]. 酿酒,1998,(6):33-36.
- [6] Mieth H O, Hamburg D R. Technology Brewing and Malting[M]. Berlin:Verlagsabteilung,1999.
- [7] 张世千. 生物酸化法在啤酒生产中的应用[J]. 辽宁食品与发酵,1992,(4):10-14.
- [8] 刘秉和,万卉. 生物酸化技术开发高档啤酒的研究[J]. 酿酒科技,1999,(3):51-53.

(责任编辑:朱 明)

但没有超过 5 g/L;加入了胰蛋白胍的质量分数 14% 全麦麦汁产酸量比单纯的质量分数 14% 全麦麦汁高 1.86%,也没有超过 5.5 g/L。

改加酵母营养盐来改变发酵条件,5# 菌接种量均为 30%,在 42 ℃ 下培养 24 h。酵母营养盐在麦汁中的添加量为 40 mg/L,结果见表 6。

表 6 在麦汁中添加酵母营养盐对乳酸产量的影响

Tab. 6 The effect of yeast food on lactic acid production

全麦麦汁固形物质量分数/%	OD 值	乳酸质量浓度/(g/L)	双乙酰质量浓度/(mg/L)
12(加酵母营养盐)	0.284	4.89	0.052
14(加酵母营养盐)	0.287	5.66	0.046
不添加	0.312	5.36	0.044

改加酵母营养盐后效果也不理想,虽然加入酵母营养盐的质量分数为 14% 的全麦麦汁发酵产酸比不添加其它物质的全麦麦汁高 5.57%,但没有达到目标值,而且不添加其它物质全麦麦汁产酸比添加了酵母营养盐的质量分数 12% 的全麦麦汁发酵高 15.83%,说明酵母营养盐对 5# 菌的作用不大。

2.7 生物酸化麦汁的调酸实验

生物酸化麦汁对辅料比为 40% 的麦汁进行调酸实验,将煮沸前麦汁的 pH 从 5.94 调节到 5.20,调酸比约为 1:40 左右,生物酸化麦汁的添加量较少,在风味上不会对定型麦汁和成品啤酒产生太大的影响。

3 结 论

确定 5# 乳酸菌的最适生长温度为 42 ℃。采用质量分数 14% 的麦汁作为 5# 菌的最佳生物酸化麦汁质量分数。5# 菌在以葡萄糖为惟一碳源的液体 MRS 培养基中比以麦芽糖为惟一碳源的液体 MRS 培养基中的产酸量要高。加入胰蛋白胍、蔗糖和酵母营养盐对提高 5# 乳酸菌的产酸量作用不大。生物酸化麦汁调酸比约为 1:40 左右,在风味上不会对定型麦汁和成品啤酒产生太大的影响。