文章编号:1009-038X(2004)03-0073-06

国产垦啤-2 号大麦制麦酶系的影响因素

赵长新, 窦少华, 孙付保
(大连轻工业学院 生物与食品工程学院,辽宁 大连 116034)

摘 要: 以垦啤-2 号大麦(适合东北气候、土质种植)为原料,将酶活分析方法与传统制麦方法相结合,按照最佳制麦工艺所得成品麦芽各项指标均介于一级品与优级品之间,其中,糖化力、糖化时间、α-氨基氮、可溶性氮均优于优级品. 通过研究制麦过程中各种添加剂对绿麦芽酶活的影响表明,利用体积分数 0.1%甲醛浸麦 1 h 效果较好;同样条件下,较质量分数 0.9%NaOH 浸麦,制麦酶系都有所提高.

关键词: 制麦酶系; 酶活分析; 影响因素
中图分类号:S 512.3 **文献标识码**: A

Factors and Mechanism Influencing the Enzyme Activity of Chinese Barley Kenpi No. 2

ZHAO Chang-xin, DOU Shao-hua, SUN Fu-bao
(College of Biology and Food Engineering, Dalian Institute of Light Industry, Dalian 116034, China)

Abstract: Chinese Barley Kenpi No. 2 was studied by enzyme assay as well as traditional malting methods during germination in this experiment. The final malt quality, based on the optimum condition, was controlled between the first level and the excellent level. Some qualities such as the diastatic power, α-amidogen nitrogen, and oluble nitrogen, were even better than those of the excellent level. The studying on the effect of adding several additives during malting on barley enzymes, showed that, soaking the barley with 0.1% Formaldehyde solution increased the whole enzyme system vitality of barley, better than which is the result soaking 0.9% Sodium hydroxide barley with.

Key words: malt enzyme system; enzyme assay; factor and mechanism

我国啤酒生产在持续 9 年居世界第二后,2002 年以 2 386.83 万 t 的产量超过美国居世界第一. 但是,长期以来,我国迅猛发展的啤酒工业及其与之相配套的原料——啤酒大麦生产,远远落后于世界先进水平[1],而且一半以上的大麦需从澳大利亚、加拿大等国进口,这对啤酒工业今后的发展十分不利. 我国啤酒行业发展,必须开发出适合我国土壤、气候的大麦新品种,只有这样才能加快麦芽的国产化. 经过数十年的研究,我国农业科学工作者培育出了优良的大麦品种,黑龙江农垦局推广的垦啤-2 号就是其中之一. 本实验对垦啤-2 号制麦工艺进行了比较研究,结果表明垦啤-2 号用于制造优良麦芽是完全可行的,并且具有良好的酿造特性.

收稿日期:2003-10-09; **修回日期**:2003-11-11.
作者简介: 赵长新(1955-),男,河北保定人,副教授.

万方数据

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 大麦原料 垦啤-2号二棱大麦：由黑龙江省友谊县北大荒麦芽集团提供；*Hordeum sp.* Harrington 和 *Hordeum sp.* Schooner：均由大连中粮麦芽有限公司提供.

1.1.2 试剂 干酪素、果胶(化学纯)；对硝基苯酚基-α-D-吡喃葡萄糖苷：日本半井化学药品株式会社生产；普鲁兰：美国 SIGMA 公司生产. 其它试剂均为分析纯.

1.1.3 仪器 721-100型分光光度计：上海第三分析仪器厂生产；糖化仪器：国产 EBC 型，北京发酵工业研究所生产；麦芽粉碎机(标准 EBC 麦芽粉碎机)：德国 BÜHLER MIAG 公司生产；恒温水浴锅：江苏南通竹行电热器厂生产；微量计量计：上海亚荣生化制剂厂生产；电子天平(AB104)：瑞士 METT LERTO LEBO 公司生产；pHS-2 型酸度计：上海第二分析仪器厂生产；WYT 型手持糖度计：成都光学厂生产；麦芽干燥炉：单层，风量三级控制，自制；色度仪：北京光电仪器厂生产；凯氏定氮装置：重庆市北碚玻璃仪器总厂特仪分厂生产；比重瓶：江苏海门三厂热工仪表厂生产；UV-120-02型分光光度计：日本岛津公司生产.

1.2 实验分析与检测方法

1.2.1 大麦、麦芽、麦芽汁、啤酒常规分析 样品水分、千粒重、水敏感性发芽力、糖化力、α-氨基氮、可溶性氮及库尔巴哈值的测定方法见文献[2].

糖化力表示麦芽中 α-淀粉酶和 β-淀粉酶使淀粉水解成还原糖(以麦芽糖计)的能力(单位：WK.)，定义为：100 g 绝干麦芽于 20 ℃、pH 3.4 条件下，分解可溶性淀粉，每 30 min 产生 1 g 麦芽糖为 1 WK. α-氨基氮、可溶性氮是指每 100 g 干麦芽所含的质量(mg).

1.2.2 制麦酶系酶活力的测定方法 称取细粉的麦芽 10.0 g 加入 0.02 mol/L pH 5.0 醋酸-醋酸钠缓冲液 100 mL，40 ℃搅拌，100 r/min 离心，保温 1 h；双层滤纸过滤，弃去最初滤液 20 mL，以后滤液保留待用.

α-淀粉酶活力的测定见文献[3]；β-淀粉酶活力、纤维素外切酶活力、果胶酶活力、普鲁兰酶活力测定见文献[4]；蛋白酶活力测定见文献[5]；α-葡萄糖苷酶活力测定见文献[6].

1.2.3 麦芽的制备方法 分别取 500 g 大麦，放入发芽筒中(同时准确称取 100 g 大麦装入尼龙袋中用于测浸麦度)，用约 13 ℃水浸渍 3 h 后取出，暗处断水数小时(4,6,8,10,12,14,16 h). 再放入 13 ℃水中浸渍 3 h，断水数小时，如此反复至浸麦度达到指定值. 将浸渍后的大麦于不同温度下发芽，然后干燥、除根、粉碎.

2 结果与分析

2.1 原料大麦的分析结果

国产大麦垦啤-2号、*Hordeum sp.* Harrington(加拿大生产)和 *Hordeum sp.* Schooner(澳大利亚生产)各项指标见表1.

由表1可以看出，垦啤-2号大麦的特点：千粒重轻(以绝干计)、发芽率较低、浸出率低而水敏性、蛋白质含量较高，其余指标均介于国家一级和优级标准之间，接近于 Harrington(加麦)和 Schooner(澳麦)各项指标.

2.2 国产垦啤-2号大麦制麦酶系的分布

大麦酶系的分布除淀粉酶外其余酶报道较少. 本实验对各部分酶活力及各部分的含量进行了测定，结果见表2.

表1 垦啤-2号、*Hordeum sp.* Harrington 和 *Hordeum sp.* Schooner 的主要指标

Tab.1 Main index of Kenpi-2, *Hordeum sp.* Harrington and *Hordeum sp.* Schooner

项目	品种				
	垦啤-2号	Harrington	Schooner	优级*	一级*
水分质量分数/%	11.2	11.0	11.1	≤13.0	≤13.0
夹杂物质量分数/%	0.2	0.4	0.3	≤0.5	≤1.5
破损率/%	0.4	0.3	0.3	≤0.5	≤1.0
千粒重/g	36.2	41.5	42.0	≥42.0	≥40.0
发芽力/%	92.0	97.0	98.0	≥95.0	≥90.0
发芽率/%	98.0	99.0	99.0	≥97.0	≥95.0
水敏感性/%	18.0	2.0	—	—	—
浸出率/%	74.6	—	—	≥80.0	≥76.0
蛋白质质量分数/%	12.7	10.7	11.5	≤12.0	≤12.5

注：* 啤酒大麦理化指标(GB 7416—87).

万方数据

表 2　制麦酶系的分布

Tab. 2　Distribution of malt enzyme system

项目	酶类						
	α-淀粉酶活/U	β-淀粉酶活/U	纤维素酶活/U	果胶酶活/U	普鲁兰酶活/U	α-葡萄糖酶活/U	蛋白酶活/U
大麦质量/g	981.7	276.8	12.8	12.7	4.3	32.0	8.4
去胚大麦质量/g	951.8	264.5	11.1	10.3	3.7	22.5	5.9
胚中酶质量分数/%	3.1	4.4	13.3	18.9	15.2	29.7	29.8
胚乳及糊粉层酶质量分数/%	96.9	95.6	86.7	81.1	84.8	70.3	70.2

从表 2 可以看出，整个大麦水解酶系在未发芽大麦中都存在，其含量较发芽大麦少，活性低. 制麦酶系主要分布在糊粉层和胚中.

2.3　添加剂对制麦酶系酶活及麦芽质量的影响

2.3.1　NaOH 对制麦酶系及麦芽质量的影响

NaOH 能浸出麦皮中多酚、谷皮酸、苦味物质，除去霉味，改善啤酒的色泽和风味，提高啤酒非生物稳定性，但用量过多会影响发芽力[7]. 为了确定 NaOH 的用量和时间，实验设计了以下方案，用不同质量分数的 NaOH 分别浸麦 1 h 和 3 h，酶活结果见图 1～3；测得麦芽的质量指标见表 3，4.

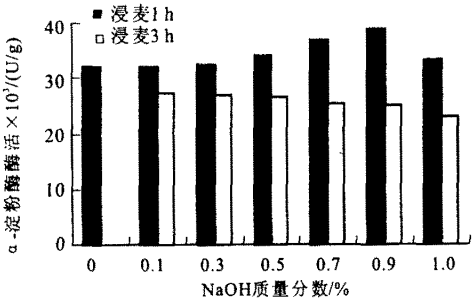


图 1　NaOH 对 α-淀粉酶酶活的影响

Fig. 1　Effect of NaOH on α-amylase activity

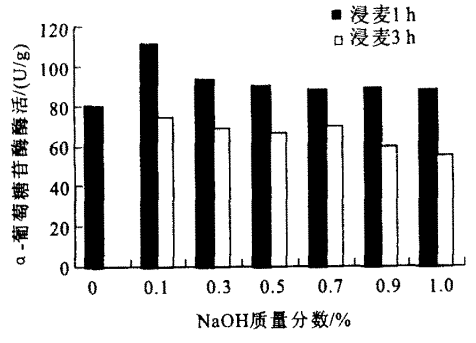


图 2　NaOH 对 α-葡萄糖苷酶酶活的影响

Fig. 2　Effect of NaOH on α-glucosidase activity

从图 1～5 可以看出，用质量分数 0.9%NaOH 浸麦 1 h，可以显著提高整个酶系酶活（较空白实验），其浸出物含量、α-氨基氮，较空白分别提高了质量分数为 5.32%，9.97%（见表 3），并且大大降低了麦汁色度. 当 NaOH 质量分数为 0.9%时，酶活达到最高值. 其原因是 NaOH 破坏了麦皮细胞壁中部分多糖分子结构，尤其是通过破坏细胞壁中的脂键，皂化纤维素中的乙酰基和破坏半纤维素之间的氢键，使构成细胞壁的纤维素膨大，半纤维素融解[8]，增加了大麦对水和氧的吸收，加快了赤霉素分泌，从而提高了酶活. 之后，随着 NaOH 质量分数的增加，酶活开始降低.

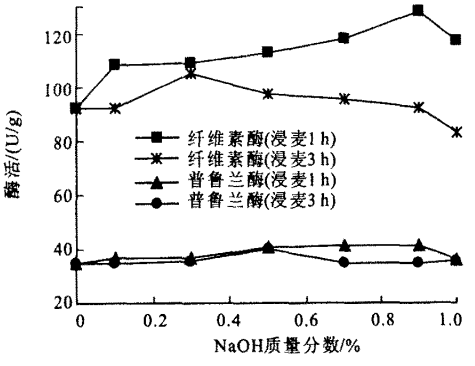


图 3　NaOH 对纤维素外切酶、普鲁兰酶酶活的影响

Fig. 3　Effect of NaOH on the activity of exo-cellulase and pullulanase

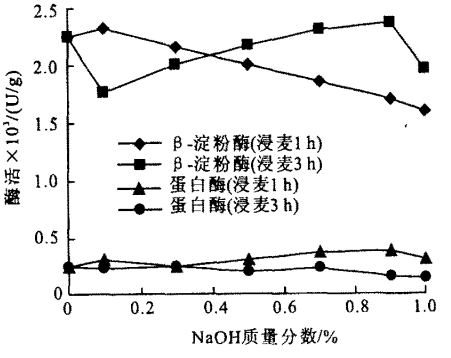


图 4　NaOH 对 β-淀粉酶、蛋白酶酶活的影响

Fig. 4　Effect of NaOH on the activity of β-amylase and protease

万方数据

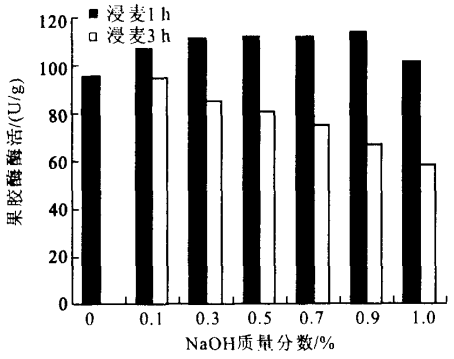


图 5 NaOH 对果胶酶酶活的影响

Fig. 5 Effect of NaOH on pectinase activity

NaOH 质量分数过高(0.9%以上),或者浸麦时间过长都不同程度地抑制了酶活,其原因可能是二者对大麦、麦芽都具有毒害作用,破坏了大麦和麦芽的内部组织,阻碍了酶的形成.

2.3.2 甲醛对制麦酶系及麦芽质量的影响 甲醛可以杀死麦皮中的微生物,有良好的防腐作用,同时,可降低麦汁中的花色苷含量,提高啤酒非生物稳定性,并能抑制根芽生长,降低制麦损失[2].

为了确定 NaOH 最佳使用质量分数和时间,做了 6 组平行实验,用不同体积分数的甲醛浸麦 1 h,结果见表 5,6 和图 6,7.

表 3 NaOH 质量分数对麦芽质量的影响(浸麦 1 h)

Tab. 3 Effect of different concentration of NaOH on malt quality

项 目	NaOH 质量分数/%						
	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	空白
无水麦芽浸出物质量分数/%	72.2	74.4	74.4	74.6	75.2	73.4	71.2
糖化时间/min	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
α-氨基氮质量/mg	260	242	229	228	231	220	208
糖度(°B_x)	7.0	7.5	7.0	7.0	8.0	7.0	7.0
煮沸色度/EBC	10.75	10.25	9.75	9.50	9.25	8.75	11.0
pH 值	5.95	5.89	6.06	5.92	5.84	6.08	5.83

表 4 NaOH 质量分数对麦芽质量的影响(浸麦 3 h)

Tab. 4 Effect of different concentration of NaOH on malt quality

项 目	NaOH 质量分数/%						
	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1.0	空白
无水麦芽浸出物质量分数/%	71.0	68.7	67.6	66.8	66.4	64.8	71.2
糖化时间/min	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
α-氨基氮质量/mg	216	206	203	198	194	191	208
糖度(°B_x)	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	6.5	7.0
煮沸色度/EBC	11.0	10.25	9.75	9.75	9.25	9.25	11.0
pH 值	5.98	5.99	6.00	5.90	5.88	6.04	5.83

表 5 甲醛体积分数对麦芽质量的影响(浸麦 1 h)

Tab. 5 Effect of different concentration of Formaldehyde on malt quality

项 目	甲醛体积分数/%				
	0.05	0.1	0.3	0.5	1.0
无水麦芽浸出物质量分数/%	78.1	78.6	76.3	76.1	75.8
糖化时间/min	15.0	10.0	10.0	10.0	10.0
α-氨基氮质量/mg	168	223	217	193	181
糖度(°B_x)	7.0	7.5	7.0	7.0	7.0
煮沸色度/EBC	7.75	7.25	6.75	6.25	5.75
pH 值	6.2	6.1	6.22	6.21	6.24

万方数据

表 6　甲醛体积分数对麦芽质量的影响(浸麦 3 h)

Tab. 6　Effect of different concentration of Formaldehyde on malt quality

项 目	甲醛体积分数/%				
	0.05	0.1	0.3	0.5	1.0
无水麦芽浸出物质量分数/%	75.7	75.5	75.0	72.2	70.3
糖化时间/min	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
α-氨基氮质量/mg	199	204	206	163	161
糖度(°B)	7.0	7.2	7.0	7.0	7.0
煮沸色度/EBC	7.25	6.75	5.75	5.75	5.75
pH 值	6.16	6.06	6.08	6.04	6.09

从图 6～10 得出，甲醛体积分数为 0.1%，浸泡时间为 1 h 有利于最大酶活的形成. 由表 5,6 可以看出，虽然较高体积分数的甲醛可以大大降低麦汁的色度，但是对麦芽的其它指标却产生了不利的影响，造成浸出物、α-氨基氮降低等. 原因可能是高体积分数甲醛过度抑制大麦叶芽、根芽的生长，抑制了酶的形成，造成了麦芽溶解度低，粉状粒少，淀粉、蛋白质分解不彻底. 对于相同体积分数的甲醛采取较长时间(3 h)浸麦的方法虽然也能明显降低麦汁的色度，但同样也降低了麦汁中浸出物、α-氨基氮的含量. 由表 5,6 对照比较可以看出，采用体积分数为 0.1%的甲醛浸麦 1 h 效果比较理想，浸出物、α-氨基氮都得到了最大值，分别为 78.6%和每 100 g 无水麦芽 223 mg.

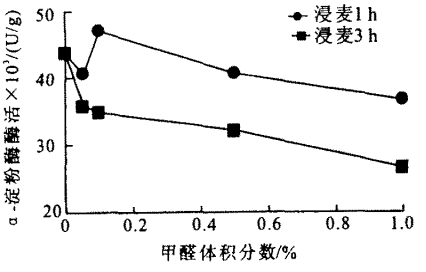


图 6　甲醛体积分数对 α-淀粉酶酶活的影响

Fig. 6　Effect of Formaldehyde on α-amylase activity

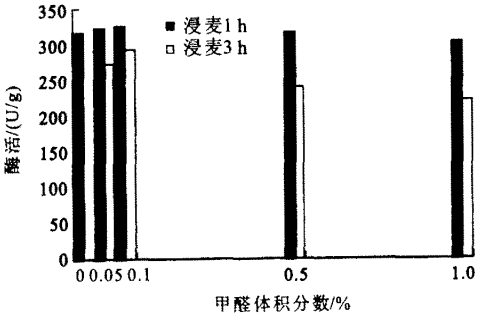


图 7　甲醛体积分数对蛋白酶酶活的影响

Fig. 7　Effect of Formaldehyde concentration on protease activity

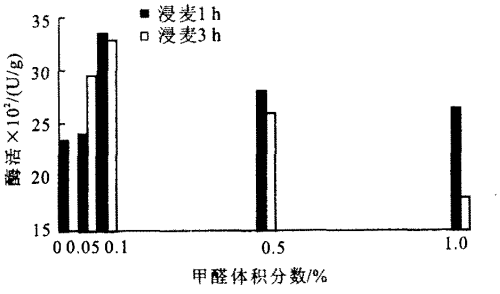


图 8　甲醛体积分数对 β-淀粉酶酶活的影响

Fig. 8　Effect of Formaldehyde concentration on β-amylase activity

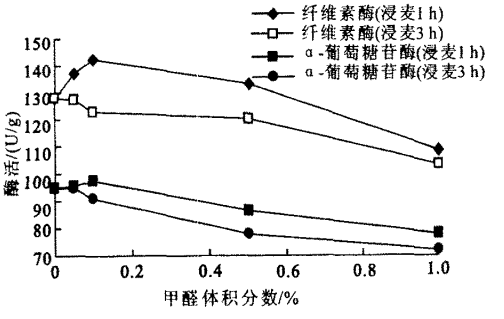


图 9　甲醛体积分数对纤维素酶、α-葡萄糖苷酶酶活的影响

Fig. 9　Effect of Formaldehyde concentration on the activity of cellulose and α-glucosidase

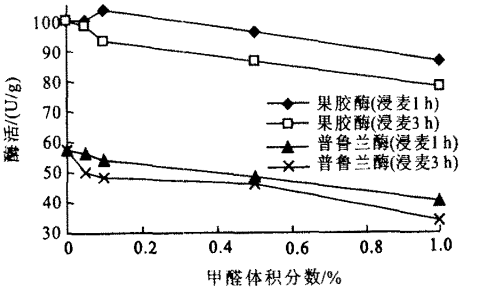


图 10　甲醛体积分数对果胶酶、普鲁兰酶酶活的影响

Fig. 10　Effect of Formaldehyde concentration on the activity of pectinase and pullulanase

万方数据

从图1～10和表3～6综合分析得知，提高麦芽中蛋白酶酶活，可大大提高麦汁中α-氨基氮的含量；而浸出物的提高依赖于整个酶系尤其是淀粉酶、果胶酶、普鲁兰酶酶活的提高.

2.3.3 最优添加剂的确定 为了同时比较甲醛和NaOH对麦芽质量影响的大小，实验用体积分数0.1%的甲醛和质量分数0.9%的NaOH浸麦1 h，测得麦芽质量指标见表7.

由表7可以得出：用甲醛作添加剂所制麦芽的浸出物可溶性氮较对照实验分别增加了5.8%，12.5%，45.6%，比NaOH处理所制麦芽分别提高了2.6%，5.2%，26.8%，并且色度值较空白实验和用NaOH处理的麦芽分别降低了28.9%和22.9%. 啤酒中就干啤酒而言，其特点之一就是色度值低，一般为7～8 EBC，而国产大麦所制麦芽普遍存在麦汁色度高，即均高于干啤酒的色度指标要求. 因此，对于国产大麦垦啤-2号来说，用甲醛浸麦是可行的，最佳体积分数为0.1%.

表7 甲醛与NaOH对麦芽指标影响的比较

Tab.7 Comparison of the effect of Formaldehyde and NaOH on malt index

项 目	甲醛	NaOH	空白
无水麦芽浸出物质量分数/%	75.3	73.4	71.2
可溶性氮质量/mg	993	944	869
α-氨基氮质量/mg	246	194	159
糖度(°B_x)	7.0	7.0	7.0
色度/EBC	6.75	8.75	9.5
pH值	6.25	6.08	6.08

2.3.4 中试实验 中试实验在大连中粮麦芽有限公司进行，所测各项指标见表8.

表8 垦啤-2号、*Hordeum sp.* Harrington和*Hordeum sp.* Schooner实验指标比较

Tab.8 Comparing index of Kenpi-2, *Hordeum sp.* Harrington and Hordeum sp. Schooner

品 种	千粒重/g	糖化时间/min	100 mL总酸/mL	糖化力/WK	100 g α-氨基酸/mg	可溶性氮质量分数/%	库值/%	浸出物质量分数/%	煮沸色度/EBC	色度/EBC
1#	30.3	10	1.79	502	191	0.838	45.1	77.5	9.00	3.75
2#	30.8	10	1.66	488	183	0.802	44.1	77.3	9.00	3.75
3#	30.6	9	1.86	483	190	0.868	49.0	78.0	9.50	4.00
Schooner	35.3	12	1.48	264	177	0.829	46.7	79.2	7.25	3.00
Harrington	35.8	8	1.65	410	169	0.766	41.9	80.5	7.50	3.50

注：1#，2#，3#为国产大麦垦啤-2号；其中1#为空白；2#为浸麦时加甲醛；3#为浸麦时加甲醛，发芽时加赤霉素.

2.3.5 最佳干燥工艺 经过多次实验得出国产大麦垦啤-2号最佳干燥工艺为

35 ℃(2 h)→45 ℃(4 h)→55 ℃(5 h)→65 ℃(4 h)→75 ℃(3 h)→80 ℃(2 h)，干燥时间共计20 h。

3 结 论

1)对制麦过程中各种添加剂与绿麦芽的影响进行了酶活分析，并把金属盐应用到制麦过程中. 结果表明：利用体积分数0.1%甲醛浸麦1 h效果较好，同样条件下，较质量分数0.9%NaOH浸麦，制麦酶系都有所提高.

2)提高麦芽中蛋白酶酶活，可大大提高麦汁α-氨基氮的含量；而浸出物的提高依赖于整个酶系尤其是淀粉酶、果胶酶、普鲁兰酶酶活的提高. 经中试实验，成品麦芽各项指标均介于一级品和优级品之间，其中糖化力、糖化时间、α-氨基氮、可溶性氮均优于优级品.

3)利用酶活分析方法和传统制麦方法所得结果基本相符，由于酶活分析方法较传统制麦方法具有简便、准确、易操作等特点，因此，用酶活分析方法取代传统制麦方法是可行和有效的.

参考文献：

[1] 顾国贤. 造酒工艺学(第2版)[M]. 北京：中国轻工业出版社，1996. 4－13.

[2] 管敦仪. 啤酒工业手册[M]. 北京：中国轻工业出版社，1998. 20－130.

(下转第84页)

万方数据

[10] Ueno Y, Hayakawa K, Takahashi S, *et al*. Purification and characterization of glutamate decarboxylase from *lactobacillus brevis* IFO12005[J]. **Biosci Biotech Biochem**, 1997,61(7):1168－1171.

[11] Nomura M, Kimoto H, Someya Y, *et al*. Production of γ－aminobutyric acid by cheese starters during cheese ripening [J]. **J Dairy Sci**, 1998,81:1486－1491.

[12] Ueno H. Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase[J]. **J Molecular Catalysis B:Enzymatic**, 2000,10:67－79.

[13] 编辑部. 注目されるGABA富化素材の开发[J]. 食品と开发,2001,36(6):8－10.

[14] 张晖,姚惠源,姜元荣. 富含γ－氨基丁酸保健食品的研究与开发[J]. 食品与发酵工业,2002,28(9):69－72.

[15] 顾振新,蒋振晖. 食品原料中γ－氨基丁酸形成机理及富集技术[J]. 食品与发酵工业,2002,28(10):65－69.

[16] 许建军,江波,许时婴. γ-氨基丁酸(GABA)—— 一种新型的功能食品因子[J]. 食品工业科技,2003,(1):109－110.

[17] 江波,许时婴,许建军. 一种食品功能因子γ－氨基丁酸的制备方法[P]. 中国专利:CN1392262A,2003-08-02.

[18] 许建军,江波,许时婴. 生物合成γ－氨基丁酸的乳酸菌的筛选[J]. 食品科技,2002,(10):7－10.

[19] Lowry O W, Rosebrough, N J, Farr A L, *et al*. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. **J Biol Chem**, 1951,193:265－275.

[20] 许建军,江波,许时婴. 比色法快速测定乳酸菌谷氨酸脱羧酶活力及其应用[J]. 微生物学通报,2004,(2):71－76.

[21] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. **Nature**, 1970,227(8): 680－685.

[22] Nomura M, Nakajima I, Aso H. *Lactococcus lactis* contains only one glutamate decarboxylase gene[J]. **Microbiology**, 1999, 145(6):1375－1380.

(责任编辑:李春丽)

(上接第78页)

[3] Fengxie Jin, Xiaomei Cheng, Yifeng Shi, *et al*. Isolation of new thermophilicaerobiobacteria which produce thermostable α-amylase[J]. **J Gen Appl Microbial**, 1990,36:415－424.

[4] 中山大学. 生物化学导论[M]. 北京:人民教育出版社,1978. 53－54.

[5] 井口信义,海老根英雄,大森邦英,等. 酱油实验法[M]. 东京:三雄舍印刷株式会社,1985. 294－298.

[6] MacGregor A W. α-Amylase, limit dextrinase and α-glucosidase enzymes in barley and malt[J]. **CRC Crit Rev Biotechnol**, 1987,5,117－128.

[7] CWB加拿大小麦局. 加拿大小麦:麦芽制作及酿酒技术指南[M]. CIGI,1997. 3－9.

[8] Dewar J Orovan. Effect of alkaline steeping on water uptake and malt quality in sorghum[J]. **J Inst Brew**, 1997,103:283－285.

(责任编辑:杨 勇)

万方数据