

不同啤酒酵母在麦汁发酵过程中发酵性能的对比研究

郑莉烨, 赵海锋, 赵谋明

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 研究了四种具有不同遗传背景的不同发酵啤酒酵母 (*Saccharomyces pastorianus*, FBY0095、FBY0096、FBY0097 和 FBY0098) 在 12 °P 正常浓度与 24 °P 超高浓度麦汁中发酵性能的差异。考察的发酵性能指标包括发酵速率、细胞生长量、酵母活性、麦汁发酵度、产酒量、游离氨基氮的消耗量、风味物质浓度及双乙酰的还原能力。结果表明, 同一酵母菌株在正常浓度和超高浓度麦汁中的发酵性能显著不同。正常浓度发酵条件下, 啤酒酵母 FBY0095 和 FBY0098 具有良好的发酵特性; 而超高浓度条件下, 啤酒酵母 FBY0097 和 FBY0098 表现出了较好的发酵性能。

关键词: 啤酒酵母; 正常浓度麦汁; 超高浓度麦汁; 发酵性能

文章编号: 1673-9078(2012)12-1659-1663

Comparative Study on Fermentation Performances of Different Lager Brewer's Yeast Strains in Wort

ZHENG Li-ye, ZHAO Hai-feng, ZHAO Mou-ming

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The fermentation performances including fermentation rate, cell growth, viability, apparent attenuation, alcohol content, FAN consumption and the concentrations of flavor volatiles and diacetyl of four brewer's yeasts (FBY0095, FBY0096, FBY0097 and FBY0098) in both normal (12 °P) and very high gravity wort (24 °P) were investigated in this paper. Results showed that yeast strains exhibited significantly different fermentation performances in normal and very high gravity worts fermentation. FBY0095 and FBY0098 showed the good fermentation performances in normal gravity fermentation, whereas FBY0097 and FBY0098 exhibited the better fermentation performances in very high gravity fermentation.

Key words: lager yeast; normal gravity wort; very high gravity wort; fermentation performance

在保持啤酒品质不改变的情况下, 如何提高啤酒的生产效率, 降低成本, 是啤酒酿造界急需解决的重要课题^[1-2]。啤酒超高浓度酿造是指采用较高浓度的麦汁 (>18 °P) 进行发酵, 在生产后期用饱和 CO₂ 脱氧水稀释成正常浓度啤酒的一种技术。与正常浓度酿造 (10~12 °P) 相比, 超高浓度酿造可在不增加糖化和发酵设备的基础上大幅度提高啤酒产量, 提高啤酒生产效率, 具有明显的经济优势^[3]。然而, 由于麦汁浓度过高, 导致发酵初期渗透压较高, 后期乙醇浓度较高, 这些环境压力会使酵母生长代谢受到不良影响, 导致发酵迟缓或停止^[4]。因此, 选育适合啤酒超高浓度酿造的酵母菌株至关重要。目前, 酵母菌种的改良方法主要包括自然突变株的选育、人工诱变、原生质

收稿日期: 2012-07-26

基金项目: 广东省科技计划项目 (2010A010500002、2011A020102001); 中央高校基本科研业务费项目 (2012ZM0069)

作者简介: 郑莉烨 (1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品生物技术

通讯作者: 赵海锋 (1977-), 男, 讲师, 博士, 主要从事发酵工程方面研究

体融合、杂交以及基因工程等方法^[5]。但无论采用哪种改良方法, 筛选出一株适合于超高浓度酿造的出发菌株是关键和基础。所以, 本研究通过对比四株工业化啤酒酵母菌株在正常浓度和超高浓度条件下的发酵性能, 阐明其不同浓度下发酵性能的差异, 以期筛选具有优良性能的、适合于超高浓度麦汁发酵的酵母菌株, 为后续的菌株改良提供出发菌株。

1 材料与方法

1.1 菌种

发酵啤酒酵母 (*Saccharomyces pastorianus*) FBY0095、FBY0096、FBY0097、FBY0098, 由华南理工大学食品生物技术实验室保藏。

1.2 麦汁制备及发酵条件

麦芽粉碎, 按照常规麦汁制备工艺获得 12 °P 正常浓度麦汁, 通过添加高浓麦葡糖浆将麦汁浓度调至 24 °P (超高浓度麦汁), 121 °C 灭菌 15 min。分别取 400 mL 正常浓度和超高浓度麦汁于 1 L 三角瓶, 以 4 g

(酵母泥)/L(正常浓度麦汁)和8g(酵母泥)/L(超高浓度麦汁)的接种量接种酵母,在12℃低温培养箱进行发酵,每天摇瓶2次。发酵过程中定时取样,发酵液在6000 r/min,4℃条件下离心10 min,取上清液进行各指标的测定。

1.3 主要设备和试剂

全自动糖化仪,杭州博日科技有限公司;BSD-150摇床培养箱,上海博讯实业有限公司;LRN-250CL低温培养箱,上海一恒科技有限公司;UV2100紫外可见分光光度计,上海尤尼柯仪器有限公司;Thermo Trace DSQ II气相色谱质谱联用仪,美国Thermo仪器公司;EL 204/EL3002电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司。

高浓麦葡糖浆(广州珠江啤酒有限公司);其他试剂为分析纯。

1.4 试验方法

1.4.1 菌种增殖和发酵性能指标测定

菌种发酵速度见参考文献^[6],细胞净生长量、酵母细胞活性、外观发酵度、酒精度、游离氨基氮(FAN)的测定见参考文献^[7],双乙酰含量测定见参考文献^[8]。

1.4.2 风味物质测定

用Thermo Trace DSQ II型气相色谱质谱联用仪测定啤酒中的风味物质。色谱柱:TR-5MS毛细管柱(30m×0.25 mm,0.25 μm),载气:氦气,1 mL/min,分流比:20:1。升温程序:40℃ 5min,以3℃/min升温至200℃,保温5 min。Thermo Xcalibur™ 2.0版软件。

2 结果与讨论

2.1 不同酵母菌株在正常浓度及超高浓度条件下发酵速度的差异

在正常浓度麦汁中,啤酒酵母FBY0098的发酵速度最快,FBY0095次之,FBY0096与FBY0097的发酵速度基本相同(见图1a)。然而在超高浓度麦汁中,啤酒酵母FBY0097和FBY0098的发酵速率最快,其次是FBY0096,FBY0095的发酵速率最慢(见图1b)。适合于正常浓度发酵的啤酒酵母FBY0095在超高浓度麦汁中发酵速度最慢,而在正常浓度麦汁中发酵速度慢的FBY0097却能在超高浓度发酵中具有良好的发酵速度。因此,不同酵母菌株在相同浓度麦汁中的发酵性能有显著差异,且同一酵母菌株在不同浓度麦汁中的发酵性能也不同,这是由于不同菌株其遗传背景不同的缘故。由图1也可以看出,超高浓度麦汁的发酵周期明显延长,这是由于随着麦汁浓度的提高,使得其渗透压升高,引起酵母胞内水分活度和细胞质

组成发生显著的变化,同时酵母细胞内酶也会受到破坏,从而抑制了酵母的生长和发酵速率^[4]。另外,麦汁浓度升高,发酵液中乙醇产量也会相应增加,乙醇浓度过高也会对酵母产生一定的毒害作用^[9],导致高浓麦汁发酵周期延长。

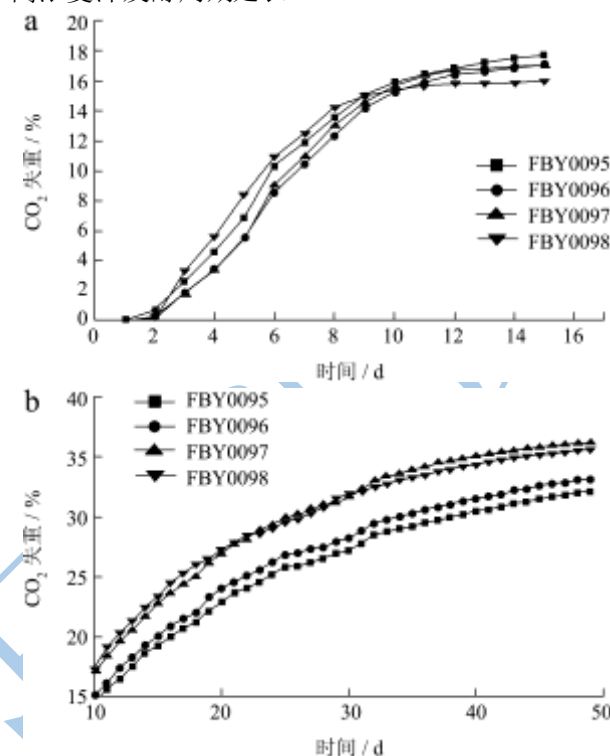


图1 不同酵母菌株在正常浓度(a)及超高浓度(b)条件下发酵速度的比较

Fig.1 Fermentation rates of the different strains in normal (a) and very high gravity (b) brewing

2.2 不同酵母菌株在正常浓度及超高浓度条件下细胞净生长量的差异

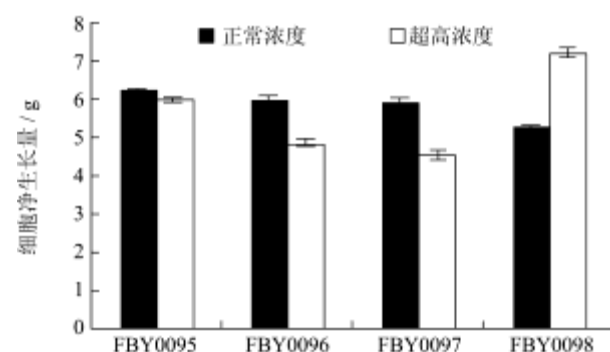


图2 不同菌株在正常浓度和超高浓度发酵的细胞净生长量
 Fig.2 The cell growths of the different strains in normal and very-high-gravity brewing

不同的酵母菌株,其渗透压调节系统的表达方式和强弱程度各不同,使得它们对外界环境表现出的耐渗性产生显著差异,而耐渗性较差的酵母的生长速率就会受到抑制^[4]。因此,在相同的麦汁浓度下,不同

的酵母具有不同的生长量，随着麦汁浓度的升高，酵母生长量也会发生显著的变化。由图 2 可以看出，在正常浓度条件下，啤酒酵母 FBY0095 的酵母净生长量最多，FBY0098 的细胞净增长量最少；但在超高浓度条件下，FBY0098 的细胞净生长量最多，FBY0097 的细胞净生长量最少。此外，同一酵母菌株在不同麦汁浓度下的净生长量也存在显著差异，啤酒酵母 FBY0096 和 FBY0097 在超高浓度条件下的细胞净生长量明显低于正常浓度条件。说明啤酒酵母 FBY0096 和 FBY0097 的耐高渗性能较差，高渗透压对其生长有明显的抑制作用，相比之下，啤酒酵母 FBY0095 和 FBY0098 具有较好的耐高渗性能。

2.3 不同酵母菌株在正常浓度及超高浓度条件下酵母活性的差异

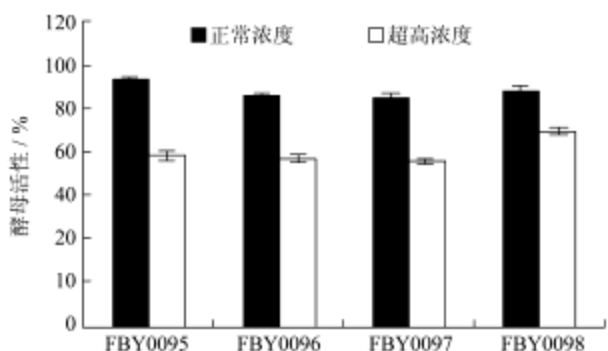


图 3 不同菌株在正常浓度和超高浓度麦汁发酵后的活性

Fig.3 The viabilities of the different strains in normal-gravity and very-high-gravity brewing

在正常浓度条件下，啤酒酵母 FBY0095 的活性最高，FBY0097 的活性最低，但活性均大于 90%。然而，由于超高浓度麦汁中存在着比正常浓度麦汁更高的可发酵性糖，这会导致酵母在发酵初期承受更高的渗透压并在发酵后期承受更高的乙醇毒性^[10]。这些环境压力就使得酵母活性明显降低。由图 3 可以看出，相比正常浓度发酵，高浓发酵条件下四株菌的活性均显著下降，其中 FBY0098 的活性最高，FBY0097 的活性最低。说明 FBY0095 在正常浓度条件下活性高，而 FBY0098 的耐高渗能力相对较强，在超高浓度条件下活性最高。

2.4 不同酵母菌株在正常浓度及超高浓度条件下表观发酵度的差异

由于酵母渗透压调节系统的表达方式和强弱程度不同，酵母的细胞膜和菌体内的酶受渗透压的破坏程度也不同，从而使得渗透压对酵母发酵的抑制作用也各不相同。因此，同一时间结束酵母的发酵，各酵母菌株的发酵度也有所不同。在正常浓度发酵条件下，

啤酒酵母 FBY0096 的表观发酵度最高，其次是 FBY0095，FBY0097 的表观发酵度最低；在超高浓度发酵条件下，啤酒酵母 FBY0097 的表观发酵度最高，其次是 FBY0098，而表观发酵度最低的是啤酒酵母 FBY0095（见图 4）。由图 4 也可知，四株酵母在表观发酵度上存在显著区别，其中 FBY0095 和 FBY0096 属于高发酵度酵母，而 FBY0097 和 FBY0098 属于中发酵度酵母。

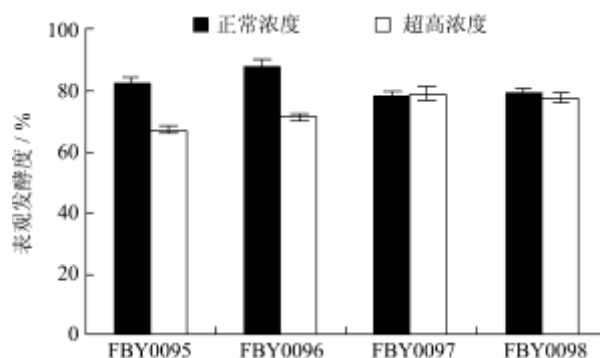


图 4 不同菌株在正常浓度和超高浓度发酵的表观发酵度

Fig.4 Apparent attenuations of the four strains in normal gravity and very high gravity brewing

2.5 不同酵母菌株在正常浓度及超高浓度条件下酒精度的差异

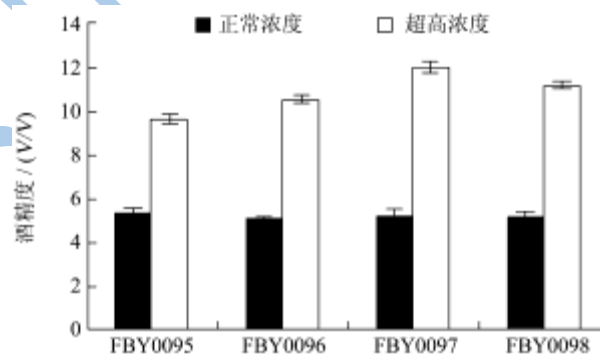


图 5 不同菌株在正常浓度和超高浓度发酵后的酒精度

Fig.5 The alcohol contents in normal-gravity and very-high-gravity worts fermented by four strains

酒精作为酿酒酵母厌氧发酵的重要产物，当麦汁浓度不超过 24 °P 时，乙醇产量会随着麦汁浓度的升高而增大^[11]。由图 5 可以看出，超高浓度发酵所得到的酒精含量明显高于正常浓度发酵。在正常浓度发酵条件下，啤酒酵母 FBY0095 产酒精量最多，FBY0096 产生的酒精量最少；而在超高浓度条件下，啤酒酵母 FBY0097 产生的酒精量最多，FBY0095 产生的酒精量最少。

2.6 不同酵母菌株在正常浓度及超高浓度条件下游离氨基氮的利用率

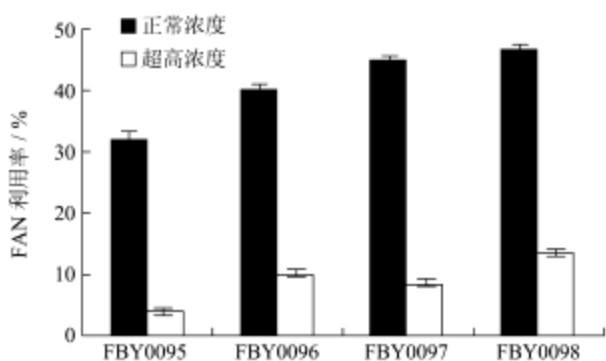


图6 不同菌株在正常浓度和超高浓度发酵后的游离氨基氮利用率

Fig.6 The utilization rates of FAN of the four strains in normal-gravity and very-high-gravity brewing

表1 不同菌株在正常浓度和超高浓度发酵后的风味物质

Table 1 The contents of volatiles of the four strains in normal-gravity and very-high-gravity brewing

风味物质 (mg/L)	FBY0095		FBY0096		FBY0097		FBY0098		阈值
	12°P	24°P	12°P	24°P	12°P	24°P	12°P	24°P	
异丁醇	7.4	6.8	7.3	7.2	7.9	6.8	6.4	7.2	100
异戊醇	18.3	11.3	18.1	11.0	19.1	11.4	18.4	10.9	50
苯乙醇	10.8	1.2	15.7	1.7	20.2	1.5	20.6	1.5	40
总高级醇	36.5	19.3	41.1	19.9	47.2	19.7	45.4	19.6	
乙酸乙酯	8.3	10.38	8.9	10.6	10.5	11.6	13.0	16.8	30
乙酸异戊酯	0.40	0.18	0.43	0.15	0.48	0.15	0.58	0.24	1.2
己酸乙酯	0.10	0.05	0.12	0.03	0.12	0.03	0.13	0.04	0.21
辛酸乙酯	0.34	0.13	0.57	0.09	0.80	0.08	0.73	0.07	0.9
乙酸苯乙酯	0.006	0.002	0.009	0.002	0.013	0.001	0.016	0.002	3.8
癸酸乙酯	0.019	0.012	0.035	0.008	0.098	0.010	0.127	0.005	1.5
总挥发酯	9.165	10.754	10.064	10.88	12.011	11.871	14.583	17.157	

注：风味物质结果被计算成相当于乙醇浓度为5%(V/V)的浓度。

啤酒的风味物质主要来自于原料和发酵过程中酵母的代谢产物^[3]。这些风味物质在一定的含量范围内可以赋予啤酒特殊的风味，但含量过高会对啤酒风味造成不良的影响，所以啤酒中的风味物质含量不能超过其阈值。由表1可以看出，不同菌种发酵所得到的风味物质含量有所差异，同时，麦汁的浓度也显著影响风味物质的组成。随着麦汁浓度的升高，嫩啤酒中异戊醇和苯乙醇含量显著降低，异丁醇含量略微下降，使得超高浓度发酵嫩啤酒中总高级醇含量低于正常浓度发酵嫩啤酒。同时，麦汁浓度增加，嫩啤酒中乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、乙酸苯乙酯及癸酸乙酯的含量略微下降，但乙酸乙酯含量有所增加，使得啤酒酵母 FBY0095、FBY0096 及 FBY0098 在超高浓度条件下发酵所得到的嫩啤酒总挥发酯的含量高于正常浓度发酵嫩啤酒，但是 FBY0097 在超高浓度条件下发酵所得到的嫩啤酒总挥发酯的含量却低于正常浓度

在啤酒的酿造过程中，啤酒酵母的胞外酶活力很弱，麦汁中的蛋白质很难被降解利用，所以酵母繁殖所需要的氮源主要依靠吸收麦汁中的游离氨基氮 (FAN)^[12]。但由于麦汁浓度过高，渗透压大，抑制了酵母细胞的生长，所以菌株在超高浓度条件下吸收的游离氨基氮比在正常浓度条件下吸收的游离氨基氮少(图6)。在正常浓度条件下，啤酒酵母 FBY0098 的氨基氮利用率最高，FBY0095 的氨基氮利用率最低；在超高浓度条件下，FBY0098 氨基氮利用率最高，而 FBY0095 的氨基氮利用率最低。

2.7 不同酵母菌株在正常浓度及超高浓度条件下风味物质的差异

发酵嫩啤酒。通常高浓酿造会提高酯类物质的含量，酵母菌株 FBY0097 出现异常的原因可能是菌株差异。

2.8 不同酵母菌株在正常浓度及超高浓度条件下双乙酰含量的差异

表2 不同菌株在正常浓度和超高浓度发酵后发酵液中的双乙酰含量

Table 2 The contents of diacetyl of the four strains in normal-gravity and very-high-gravity brewing

菌株	正常浓度双乙酰含量/(mg/L)	超高浓度双乙酰含量/(mg/L)
FBY0095	0.262±0.003	0.083±0.002
FBY0096	0.187±0.003	0.091±0.003
FBY0097	0.161±0.002	0.089±0.003
FBY0098	0.142±0.004	0.095±0.002

双乙酰是啤酒发酵过程中的重要副产物，也是一种风味物质，当其含量过高时(淡色啤酒中≥1.5

mg/L), 啤酒会呈现出馊饭味, 严重破坏啤酒的风味, 并影响啤酒的感官质量^[4]。由表 2 可知, 在正常浓度麦汁发酵条件下, FBY0098 和 FBY0097 显示了较低的双乙酰含量, 而在超高浓度条件下 FBY0095 和 FBY0097 具有较低的双乙酰含量, 但差异并不显著。此外, 与正常浓度发酵相比, 超高浓度酿造使得嫩啤酒中双乙酰含量均大幅度降低, 这可能与超高浓度条件下较高的酵母接种量和较长的发酵时间有关。超高浓度条件下, 酵母的接种量大, 增殖倍数降低, 产生的 α -乙酰乳酸减少, 从而产生较少的双乙酰^[5]。另一方面, 超高浓度麦汁发酵周期长, 酵母对双乙酰的还原较彻底, 使得嫩啤酒中双乙酰含量较低。

3 结论

3.1 在正常浓度麦汁条件下, 啤酒酵母 FBY0095 具有较快的发酵速度, 最大的细胞生长量和最高的活性, 外观发酵度和酒精度也较高, 显示出了良好的发酵特性, 但双乙酰含量略高; 相比之下, 虽然 FBY0098 的细胞生长量偏低, 但是其发酵速度最快, 且外观发酵度和酒精度都较高, 双乙酰含量则较低, 所以 FBY0098 较为适合应用于大型正常浓度发酵。

3.2 在超高浓度麦汁条件下, 虽然啤酒酵母 FBY0097 的细胞生长量最低且死亡率最高, 但是其发酵速度快, 外观发酵度和酒精度高, 且双乙酰含量较低, 所以该菌株较为适合于进行高浓发酵, 若将其作为耐高渗透变的出发菌株, 对其进行一系列物理或化学诱变, 缩短其发酵周期, 则有可能应用于大型高浓发酵。另外, FBY0098 在超高浓度麦汁条件下也具有较快的发酵速度, 较高的发酵度、酒精度、细胞生长量和较低的死亡率, 因此也适用于作为耐高渗透变的出发菌株。

参考文献

[1] 凌猛, 祖国仁, 曹磊. 高耐性优良啤酒酵母菌的选育及其高浓发酵后啤酒风味的研究[J]. 中国酿造, 2010, 10: 92-95

- [2] 杨小兰, 罗正明, 胡仕屏等. 降低高浓啤酒发酵中高级醇含量的研究[J]. 食品科学, 2011, 32(09): 188-192
- [3] 彭景龙, 吴振强, 梁世中. 啤酒高浓酿造研究进展[J]. 酿酒, 2009, 28(5): 34-35
- [4] 薛军侠. 酿酒酵母的筛选鉴定及耐受性初步研究[D]. 陕西: 西北农林科技大学葡萄酒学院, 2007
- [5] 赵硕. 耐高渗(高糖)酵母菌株的选育[D]. 安徽: 安徽农业大学茶与食品科技学院, 2010
- [6] 傅力, 张卓, 王德良, 等. 低产蛋白酶 A 啤酒酵母的诱变选育及在啤酒中试发酵中应用的研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(8): 213-218
- [7] 管敦仪. 啤酒工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1982
- [8] 孔鲁裔. 紫外分光光度法测定啤酒中的双乙酰[J]. 酿酒, 2007, 34(4): 105-106
- [9] Chi Z, Arneborg N. Relationship between lipid composition, frequency of ethanol-induced respiratory deficient mutants, and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, 86: 1047-1052
- [10] Pereira FB, Guimarães PMR, Teixeira JA, et al. Selection of *Saccharomyces cerevisiae* strains for efficient very high gravity bio-ethanol fermentation processes [J]. *Biotechnology Letters*, 2010, 32: 1655-1661
- [11] 俞志敏, 赵谋明, 赵海锋等. 啤酒高浓酿造对酵母代谢影响的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(10): 108-112
- [12] O'Connor-Cox ESC, Ingledew WM. Alleviation of the effects of nitrogen limitation in high gravity worts through increased inoculation rates [J]. *Journal of Indian Microbiology*, 1991, 7: 89-96
- [13] 刘耘. 麦芽中的风味物质[J]. 现代食品科技, 1991, 1: 18-21
- [14] 励建荣, 裘纪莹. 啤酒酿造中的双乙酰及其酶法控制研究进展[J]. 现代食品科技, 2007, 23(9): 65-68
- [15] 梁瑞贞, 高建民. 啤酒双乙酰的控制与测定[J]. 山东食品发酵, 2003, 4: 44-46