

制麦过程中添加金属离子与赤霉素对大麦发芽过程淀粉酶系影响的研究

李珊¹, 管斌¹, 荀娟¹, 孔青¹, 余俊红², 董建军², 单连菊², 黄树丽², 刘佳²

1(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛, 266003)

2(青岛啤酒股份有限公司, 山东 青岛, 266061)

摘要 大麦发芽过程中, 添加不同浓度的金属离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 和赤霉素(GA₃)对 α -淀粉酶、 β -淀粉酶和极限糊精酶活性有一定的激活和抑制作用; 实验发现, 添加量分别为: Mg^{2+} 50 mg/kg, Ca^{2+} 50 mg/kg, Zn^{2+} 20 mg/kg, K^+ 60 mg/kg, Na^+ 80 mg/kg, GA₃ 0.5 mg/kg 时, 对上述 3 种淀粉酶酶活均有一定的激活作用。与单独用金属离子或赤霉素浸麦相比, 金属离子和赤霉素的配合使用对 3 种淀粉酶的酶活提高作用更为显著。

关键词 大麦芽, 金属离子, 赤霉素, α -淀粉酶, β -淀粉酶, 极限糊精酶

研究发现, 在大麦制麦过程中添加金属离子对麦芽酶系的酶活力有明显的抑制或激活作用^[1~4], 而酶的活性对麦芽的质量和制麦周期都有很大影响^[5,6]。另外, 麦芽中金属离子的组成及含量对麦汁中的离子含量以及酵母在发酵过程发酵活力有很大影响, 从而影响啤酒的质量和风味^[7,8,9]。另一方面, 近几十年国内外啤酒工业普遍使用赤霉素(简称 GA₃)作为制麦添加剂^[10], 产生了巨大的经济效益。制麦过程中, 大麦胚部生成的 GA₃ 被送至糊粉层, 促进各种酶的形成, 完成对胚乳的溶解^[11,12]。通常生产中也将会将较低量的 GA₃ 添加到发芽过程中的大麦中, 以补充大麦籽粒胚部所产生的 GA₃ 的不足, 促进酶的形成, 加快胚乳的溶解, 缩短发芽时间, 制备高品质的麦芽。

目前关于添加大麦生长促进剂对淀粉酶系和酶活影响的研究多集中在单一添加剂对 α -淀粉酶、 β -淀粉酶的研究^[3~5], 而对多种添加剂复配使用的结果和对极限糊精酶活力的影响鲜有研究。虽然麦芽中极限糊精酶的含量远远低于 α -淀粉酶和 β -淀粉酶, 但它的活性与麦芽汁表观可发酵度之间的相关性高于与 α -淀粉酶和 β -淀粉酶活性的相关性^[13]。因此, 极限糊精酶才是影响提高麦芽汁发酵度的关键酶。另外, 2 种类型的大麦生长促进剂的协同作用往往比单一因素对酶产生的影响具有更明显的效应。本实验以啤酒大麦为原料, 通过分别添加不同浓度的金属离子

和赤霉素以及复合处理进行制麦, 研究大麦生长促进剂对 α -淀粉酶、 β -淀粉酶和极限糊精酶在发芽过程中的动态变化以及酶产生的影响, 主要以提高极限糊精酶活性为目的, 比较不同浓度酶激活剂对 3 种酶的变化规律, 得到大麦生长促进剂的最适用量, 为制麦工艺的改进提供理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料与试剂

实验选用大麦为甘啤 3 号, 由青岛啤酒集团麦芽厂提供; 可溶性淀粉购于成都市彭县丽春化学厂; Red Pullulan, Megazyme 公司; L-半胱氨酸盐酸盐(BR), 国药集团化学试剂有限公司; $MgCl_2$ 、无水 $CaCl_2$ 、 $ZnCl_2$ 、KCl、NaCl(AR), 山东省化工研究院; 赤霉素 GA₃(纯度 > 90%), Bio Basic Inc. 公司。

1.2 啤酒大麦制麦工艺

实验中每次可处理 6 个 500 g 样品, 每批样品均设置对照样, 即不添加任何药品且保持相同工艺条件。制麦工艺如下:

(1) 洗麦: 大桶洗麦, 除尽水面的浮麦、被虫损坏的麦粒及杂物

(2) 浸麦: 浸麦 7 h → 断水 5.5 h → 浸麦 5.5 h → 断水 6 h → 浸麦 7 h, 最后恒温摇匀药品浸麦至浸麦度达到 43%。

(3) 发芽: 人工气候箱发芽温度为 16℃, 湿度为 85%; 发芽 4~5 d。

(4) 焙焦: 鼓风干燥箱干燥。35℃至 45℃排潮 24 h, 最后在 84℃焙焦 2.5 h。

第一作者: 硕士研究生(管斌教授为通讯作者)。

收稿日期: 2008-10-09, 改回日期: 2008-11-26

1.3 金属离子及赤霉素的添加

1.3.1 添加金属离子的种类和形式

本实验选择添加的金属离子有： Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} ，分别以 $MgCl_2$ 、 $CaCl_2$ 、 $ZnCl_2$ 、 KCl 和 $NaCl$ 的形式添加。

添加时间：最后 1 次浸麦以浸渍形式添加。

添加量：按每千克水中金属离子添加量如下： Mg^{2+} 按浓度梯度 0, 10, 30, 50, 70, 90 mg/kg 添加； Ca^{2+} 按浓度梯度 0, 10, 30, 50, 70, 90 mg/kg 添加； Zn^{2+} 按浓度梯度 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/kg 添加； K^{+} 按浓度梯度 0, 20, 40, 60, 80, 100 mg/kg 添加； Na^{+} 按浓度梯度 0, 40, 60, 80, 100, 120 mg/kg 添加。

1.3.2 赤霉素的添加

按 0, 0.05, 0.50, 5, 50, 500 (mg/kg) 用量添加 GA_3 ，进行药品浸麦。添加时间和方式同上。

1.4 淀粉酶系的提取及活性测定

1.4.1 麦芽粉的制备

鉴于极限糊精酶、 β -淀粉酶的热不稳定性，样品种子采取低温长时干燥法， $35^{\circ}C$ 下鼓风干燥 24 h，去除根、芽，磨粉，过 0.45 mm 筛，收集麦芽粉^[14]。

1.4.2 (α + β)-淀粉酶的提取及活性的测定^[15]

称取麦芽粉 2.50 g，加蒸馏水 25 mL，摇匀，在室温下放置 30 min，每隔 5 min 摇动 1 次，然后在 3 000 r/min 下离心 10 min，收集上清液，按 1 : 50 稀释，即为淀粉酶稀释液。

α -淀粉酶、 β -淀粉酶总活性的测定是将淀粉酶稀释液与 1% 淀粉溶液在 $40^{\circ}C$ 下保温 10 min，然后用 3,5-二硝基水杨酸法测定反应生成的还原糖。 α -淀粉酶活性测定是将淀粉酶原液在 $70^{\circ}C$ 下保持 15 min 以钝化 β -淀粉酶活性，然后与 1% 淀粉溶液在 $40^{\circ}C$ 共

保温 10 min，再用 3,5-二硝基水杨酸法测定反应生成的还原糖。

酶活力单位定义为：在实验条件下，每分钟催化底物所释放的还原糖，其还原力相当于 1mg 麦芽糖所需的酶量。

1.4.3 极限糊精酶的提取及活性的测定^[16]

称取麦芽粉 1g，加入含 20 mmol/L L-半胱氨酸盐酸盐的 0.2 mol/L pH 5.5 醋酸钠缓冲液 4 mL，恒温水浴摇床， $40^{\circ}C$ 、100 r/min 条件下恒温水浴 16 h 可获得极限糊精酶最大活性。所得混合液在常温下，3 000 r/min 离心 10 min，上清液即为极限糊精酶总酶液。

酶液先 $40^{\circ}C$ 温浴预热 5min，然后将 0.4 mL 酶液加入到 0.1 mL Red Pullulan 溶液中，混合均匀，于 $40^{\circ}C$ 下准确反应 10 min。而后加入 0.5 mL 体积分数 85% 乙醇终止反应，强烈振荡 10 s，静置 10 min 后，15 000 r/min 离心 6 min。于 510 nm 下测吸光度。空白样则于底物中先加乙醇后加酶液。

2 结果与讨论

2.1 添加金属离子对酶活力的影响

啤酒大麦制麦过程中，浸麦时段按不同浓度添加金属离子浸麦，发芽 4 d，测定麦芽 α -淀粉酶、 β -淀粉酶及极限糊精酶的酶活性，以极限糊精酶活性提高为主要指标，综合考虑对 3 种淀粉酶活性的影响，探索不同金属离子的最适添加量。

2.1.1 Mg^{2+} 对酶活性的影响

按照方法 1.3.1 添加 Mg^{2+} 制麦，发芽 4d，测定 3 种淀粉酶的活性，实验结果如表 1 所示。

表 1 Mg^{2+} 对淀粉酶活性的影响

Mg^{2+} 浓度/mg · kg ⁻¹	0	10	30	50	70	90
极限糊精酶活力/u · g ⁻¹	58.17	60.23	76.34	84.67	64.07	54.43
α -淀粉酶活力/u · g ⁻¹	100.05	101.05	107.83	116.07	109.34	92.74
β -淀粉酶活力/u · g ⁻¹	440.12	485.74	518.47	570.77	522.10	388.71

从表 1 可知， Mg^{2+} 对 β -淀粉酶和极限糊精酶活性的影响较大，对 α -淀粉酶也有一定的影响。较低浓度时，3 种淀粉酶活性均随其浓度增大而升高；但较高浓度的 Mg^{2+} 对淀粉酶有抑制作用。当 Mg^{2+} 浓度为 50 mg/kg 时， α -淀粉酶、 β -淀粉酶和极限糊精酶

活性均达到最大，取 Mg^{2+} 的最适添加量为 50 mg/kg。

2.1.2 Ca^{2+} 对酶活性的影响

按照方法 1.3.1 添加 Ca^{2+} 制麦，发芽 4 d，测定 3 种淀粉酶的活性，结果如表 2 所示。

表 2 Ca^{2+} 对淀粉酶活性的影响

Ca^{2+} 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0	10	30	50	70	90
极限糊精酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	58.17	74.29	76.61	91.68	67.49	42.94
α -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	100.05	137.01	140.63	141.92	161.31	95.13
β -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	440.12	524.46	478.38	577.29	560.042	420.43

由表 2 可知, Ca^{2+} 对 α -淀粉酶和极限糊精酶活性的影响较大。 Ca^{2+} 浓度较低时, 酶活性随浓度的增加而上升; 当 Ca^{2+} 浓度高于 70 mg/kg 时, 则对淀粉酶有抑制作用。

对极限糊精酶和 β -淀粉酶, Ca^{2+} 的最适添加量

为 50 mg/kg ; 对 α -淀粉酶而言, Ca^{2+} 的最适添加量则为 70 mg/kg 。最终取 Ca^{2+} 最适添加量 50 mg/kg 。

2.1.3 Zn^{2+} 对酶活性的影响

按照方法 1.3.1 添加 Zn^{2+} 制麦, 发芽 4 d, 测定 3 种淀粉酶的活性, 结果如表 3 所示。

表 3 Zn^{2+} 对淀粉酶活性的影响

Zn^{2+} 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0	10	20	30	40	50
极限糊精酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	58.17	62.42	71.61	60.97	53.04	50.96
α -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	100.05	82.45	159.74	98.33	68.28	46.37
β -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	440.12	422.04	513.13	487.00	486.42	378.80

由表 3 可知, Zn^{2+} 对 α -淀粉酶和 β -淀粉酶有较大的激活和抑制作用, 对极限糊精酶的作用不太明显。只有低浓度的 Zn^{2+} 对淀粉酶有激活作用, 当 Zn^{2+} 的添加量为 20 mg/kg 时, 3 种淀粉酶活性均达到最大; 当 Zn^{2+} 浓度高于 20 mg/kg 时, 淀粉酶活性

逐渐下降, 高浓度 Zn^{2+} 抑制淀粉酶尤其是 α -淀粉酶的活性。取 Zn^{2+} 最适添加量为 20 mg/kg 。

2.1.4 K^{+} 对酶活性的影响

按照方法 1.3.1 添加 K^{+} 制麦, 发芽 4 d, 测定 3 种淀粉酶的活性, 结果如表 4 所示。

表 4 K^{+} 对淀粉酶活性的影响

K^{+} 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0	20	40	60	80	100
极限糊精酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	58.17	69.68	73.44	86.59	90.48	48.19
α -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	100.05	84.86	111.03	115.13	82.21	100.49
β -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	440.12	443.50	457.74	500.09	472.30	423.85

由表 4 可知, K^{+} 对极限糊精酶活性的影响较大, 最适添加量为 80 mg/kg 。当 K^{+} 添加量在 20~60 mg/kg 时, 对 α -淀粉酶活性有促进作用; K^{+} 添加量在 20~80 mg/kg 时, 对 β -淀粉酶活性有促进作用。

综合考虑后取 K^{+} 最适添加量 60 mg/kg 。

2.1.5 Na^{+} 对酶活性的影响

按照方法 1.3.1 添加 Na^{+} 制麦, 发芽 4 d, 测定 3 种淀粉酶的活性, 实验结果如表 5 所示。

表 5 Na^{+} 对淀粉酶活性的影响

Na^{+} 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0	40	60	80	100	120
极限糊精酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	58.17	80.55	85.42	94.41	82.89	80.92
α -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	100.05	111.12	110.12	116.11	105.60	98.73
β -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	440.12	444.13	485.88	488.73	486.30	420.20

由表 5 可知, Na^{+} 对极限糊精酶的影响较大, 对 α -淀粉酶和 β -淀粉酶活性也有一定影响。当 Na^{+} 的添加量为 80 mg/kg 时, 3 种淀粉酶活性均达到最大。故 Na^{+} 的最适添加量为 80 mg/kg 。

2.2 添加赤霉素(GA_3)对酶活性的影响

按照方法 1.3.2 添加赤霉素浸麦, 发芽 4d, 测定 3 种淀粉酶的活性, 实验结果如表 6 所示。

表 6 GA_3 对淀粉酶活性的影响

$\text{GA}_3/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0	0.05	0.50	5	50	500
极限糊精酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	58.17	50.88	60.99	49.74	42.22	36.95
α -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	100.05	102.06	122.74	116.43	60.50	61.37
β -淀粉酶活力/ $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$	440.12	450.14	464.21	437.48	452.33	405.13

赤霉素是一种植物激素,它对种子的萌发有一定促进作用。由表6可知,低浓度的赤霉素对淀粉酶活有激活作用,随赤霉素浓度的增加,逐渐表现出对淀粉酶活力的抑制作用。其最适添加量为0.5 mg/kg。

2.3 赤霉素与金属离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 配合使用对酶活性的影响

试验中选择甘啤3号大麦为原料,在4种浸麦条件下发芽10d,对其 α -淀粉酶、 β -淀粉酶及极限糊精酶活性的动态变化进行研究,分析添加物配合使用对淀粉酶在发芽过程中的影响。4种浸麦条件分别为:(1)仅添加赤霉素;(2)仅添加金属离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ ;(3)同时添加赤霉素和金属离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ ;(4)空白。赤霉素和各金属离子的添加量采用2.1与2.2所选择的最佳用量。

2.3.1 对极限糊精酶活性的影响

由图1可知,配合添加金属离子和赤霉素对极限糊精酶活性的提高有显著影响。与空白实验相比,配合添加金属离子和赤霉素在发芽初期即可提高极限糊精酶的活性,发芽3d酶活水平(82.61 u/g)即接近空白条件发芽4d的水平(103.12 u/g),并可使最大酶活提高近20%。既可起到缩短发芽天数,又能提高酶活力的作用。单独添加赤霉素可使发芽过程中极限糊精酶保持较高的酶活,但单独添加金属离子却使酶活有所降低。

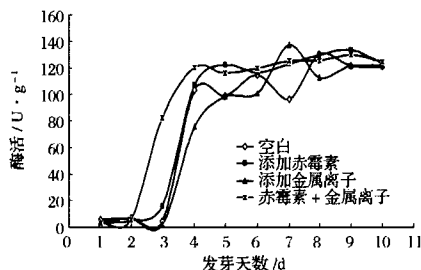


图1 不同浸麦条件对极限糊精酶活性的影响

2.3.2 对 α -淀粉酶活性的影响

由图2可知,赤霉素对 α -淀粉酶活性的提高有显著影响。与空白实验相比,单独添加赤霉素和配合添加金属离子和赤霉素都可使 α -淀粉酶的活性在发芽4d时即达到较高水平(138.18 u/g, 128.28 u/g),也可使最大酶活提高20%以上。复合添加既可以缩短发芽天数,也可提高酶活力。但单独添加金属离子效果较差。

2.3.3 对 β -淀粉酶活性的影响

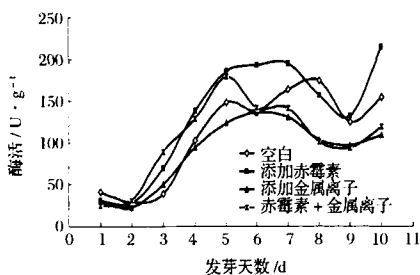


图2 不同浸麦条件对 α -淀粉酶活性的影响

由图3可知,配合添加金属离子和赤霉素对 β -淀粉酶活性的提高有显著影响。与空白实验相比,配合添加金属离子和赤霉素在发芽初期即可提高 β -淀粉酶的活性,发芽3d酶活水平(513.60 u/g)即超过到空白条件发芽4d的水平(479.26 u/g),最大酶活提高21.9%。既可起到了缩短发芽天数,又可提高酶活力的作用。但单独添加赤霉素时,促进发芽的作用时间有所延迟,直至发芽5、6d时才使酶活有一定提高,这对现行的因考虑制麦成本缩短发芽时间为4d左右的制麦工艺来说意义不大。而单独添加金属离子的效果较差。

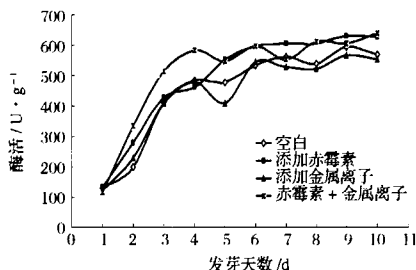


图3 不同浸麦条件对 β -淀粉酶活性的影响

3 结论

在大麦发芽过程中,添加不同浓度的金属离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 和赤霉素(即 GA_3)对 α -淀粉酶、 β -淀粉酶和极限糊精酶活性都有一定的激活作用。由实验可知,单独添加某一金属离子或赤霉素时的最适添加量分别为: Mg^{2+} 50 mg/kg, Ca^{2+} 50 mg/kg, Zn^{2+} 20 mg/kg, K^+ 60 mg/kg, Na^+ 80 mg/kg, GA_3 0.5 mg/kg。

考虑不同添加物的协同作用是改进制麦工艺的一个重要方面。由实验可知,虽然单独添加适当浓度的某一金属离子对酶活有促进作用,但多种金属离子复合使用对3种淀粉酶活性的提高效果均较差;而单独使用赤霉素可提高 α -淀粉酶活性,而对 β -淀粉酶和

极限糊精酶影响不太明显。由于大麦生长促进剂的协同作用,金属离子 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 和赤霉素的配合使用对 3 种淀粉酶均可同时起到缩短发芽天数和提高酶活力的作用,以单独最佳添加量复合添加时,发芽 3d 的酶活水平即可接近或超过空白发芽 4 d 的水平,而且均可使 3 种酶最大酶活提高 20% 左右。这对降低制麦的生产成本和提高成品麦芽的质量具有重要的意义。

参 考 文 献

- 1 孙鲁威. 啤酒大麦——一个渴望发展的边缘产业[J]. 北京农业, 2007(12): 5~6
- 2 杨立华, 张明辉, 李承华. 大麦发芽过程中金属离子含量变化的跟踪检测[J]. 啤酒科技, 2005(8): 25~30
- 3 张春玲, 赵长新, 董亮. 关于添加金属离子对国产大麦芽酶系酶活力影响的研究[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 195~199
- 4 张春玲, 张长新, 董亮, 等. 大麦发芽过程中金属离子对大麦酶系中淀粉酶活力影响研究[J]. 食品工业科技, 2005, 26(8): 75~81
- 5 赵长新, 窦少华, 孙付保. 国产垦啤-2 号大麦制麦酶系的影响因素[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(3): 78~84
- 6 Ploncheva GL. The Effect of Magnesium Ions during Beer Fermentation[J]. Cytobios, 1998, 94: 135~139
- 7 孙廷宏, 赵长新, 金凤鸾. 几种无机离子对啤酒酵母生理代谢的影响及发酵过程的产酸机制[J]. 大连轻工业学院学报, 2002, 21(1): 29~32
- 8 孙付保, 任洪艳, 窦少华, 等. 离子与啤酒酵母生理代谢相关性的初步研究[J]. 中国酿造, 2004(8): 12~15
- 9 Lu K P, Means A R. Regulation of the cell cycle by calcium and calmodulin [J]. Endocrin Review, 1993, 14: 40~58
- 10 王宏. 使用国产大麦生产优质麦芽初探[J]. 中国啤酒通讯, 1995(3): 15~18
- 11 吴蕴琛. 赤霉素在麦芽生产中的应用[J]. 大麦与谷类科学, 2006(1): 36~39
- 12 管敦义. 啤酒工业手册(修订版)[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996. 3
- 13 MacGregor A W, Bazin S L, Macri L J, et al. Modelling the contribution of alpha-amylase, beta-amylase and limit dextrinase to starch degradation during mashing[J]. J Cereal Sci, 1999, 29: 161~169
- 14 MacGregor A W, Macri L J, Schroeder S W, et al. Purification and characterisation of limit dextrinase in hibernators from barley [J]. J Cereal Sci, 1994, 20: 33~41
- 15 邹琦编. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 56~59
- 16 McCleary B V. Measurement of the content of limit dextrinase in cereal flours [J]. Carbohydr Res, 1992. 227~257

Study on the Effect of Ions and GA_3 on the Carbohydrases during Barley Malt Production

Li Shan¹, Guan Bin¹, Xun Juan¹, Kong Qing¹, Yu Junhong²,
Dong Jianjun², Shan Lianju², Huang Shuli², Liu Jia²

1 (Institute of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

2 (Tsingtao Brewery Company Limited, Qingdao 266061, China)

ABSTRACT The study was conducted on the dynamic changes of α -amylase, β -amylase and limit dextrinase during the barley sprouting course by adding different materials (metal ions and GA_3). According to experiments, the optimum amount are as follows: Mg^{2+} 50mg/kg, Ca^{2+} 50mg/kg, Zn^{2+} 20mg/kg, K^{+} 60mg/kg, Na^{+} 80mg/kg, GA_3 0.5mg/kg. Compared to adding ions and GA_3 individually, their joint effect of activation on three enzymes is more noticeable.

Key words barley malt, ions, GA_3 , α -amylase, β -amylase, limit dextrinase