

霉菌酸性蛋白酶应用于啤酒澄清试验

上海啤酒厂 上海华光啤酒厂

上海酒精厂 上海市工业微生物研究所

我们于1971年4月至1974年7月，使用高单位精制的霉菌酸性蛋白酶进行澄清啤酒的试验，结果证明，高单位精制的霉菌酸性蛋白酶作为啤酒澄清剂是可行的，它与菠萝蛋白酶有相同的效果，可以延长啤酒保存期，对啤酒泡沫、口味均无异常影响。现将试验工作简要介绍如下：

霉菌酸性蛋白酶

本试验所用的霉菌酸性蛋白酶精制品系由上海酒精厂和上海市工业微生物研究所提供。黑曲霉3.350酸性蛋白酶是以玉米粉、豆饼粉等为原料作培养基，经通风深层培养后，将发酵液滤去菌体和杂质，用硫酸铵盐析蛋白酶，再经离子交换脱色、离子交换去盐，然后用冷冻升华制成的一种淡黄一白色粉状酸性蛋白酶制剂。酶活力（福林法测定）为30—60万单位/克，无异味，可溶解于啤酒和水中，不溶于60%以上的乙醇，纯度符合口服药用要求。对大麦蛋白质分解力：每克42万单位的酸性蛋白酶制剂为369.81毫克；每克35万单位的菠萝蛋白酶制剂为221.87毫克。

霉菌酸性蛋白酶应用于 啤酒澄清试验

我们使用高单位精制的霉菌酸性蛋白酶，作了多次啤酒澄清试验。现仅就其中生产试验一例加以介绍：

华光啤酒厂于1973年10月18—21日，灌装12°海鸥啤酒1880升，12°光明二级黄啤2920升，在下酒20天时加酸性蛋白酶（32万单位/克）0.5ppm、1ppm，用菠萝蛋白酶（40万单位/克）1.5ppm和不加酶者作对照。

上海啤酒厂于1973年10月17日灌装10.5°黄啤2500升，在下酒时加酸性蛋白酶（32万单位/克）0.5ppm，菠萝蛋白酶（35万单位/克）1.5ppm作对照。

在贮酒期间对啤酒蛋白质区分进行测定，结果见表1（12°光明二级黄啤）。

表1 空白对照中的高分子蛋白质占总蛋白质的百分率下降1.73，添加0.5ppm酸性蛋白酶者下降4.44，加1ppm酸性蛋白酶者下降5.87，加1.5ppm菠萝蛋白酶者下降6.86。可见，啤酒的后发酵贮藏期加入蛋白酶可促进啤酒的成熟澄清，使啤酒的高分子蛋白质占总蛋白质的百分率下降。相应的啤酒低分子蛋白质的百分率增加。因此，霉菌酸性蛋白酶对啤酒的澄清作用与菠萝蛋白酶一样，可将形成浊雾的部份高分子蛋白质水解为低分子多肽类和氨基酸。

经中国科学院上海生物化学研究所氨基酸分析结果表明，随着酸性蛋白酶用量增加，啤酒中游离氨基酸量也相应增加。例如，光明12°二级黄啤，添加酸性蛋白酶（32万单位/克）0.5ppm时，游离氨基酸含量为980.71毫克/升，加1ppm酸性蛋白酶时，游离氨基酸含量为1038.76毫克/升。啤酒中多肽与啤酒风味有

表1 啤酒贮酒期蛋白质区分测定结果

| 项 目 | 加 酶 量 | | 空 白 对 照 | | 菠萝蛋白酶(40万单位/克) 1.5 ppm | | 酸性蛋白酶(32万单位/克) 1 ppm | | 酸性蛋白酶(32万单位/克) 0.5 ppm | |
|-------|------------------|-------------|------------------|-------------|---------------------------|-------------|-------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| | 含 量 (克/100毫升) | 占总蛋白 (%) | 含 量 (克/100毫升) | 占总蛋白 (%) | 含 量 (克/100毫升) | 占总蛋白 (%) | 含 量 (克/100毫升) | 占总蛋白 (%) | 含 量 (克/100毫升) | 占总蛋白 (%) |
| 加 酶 前 | 总蛋白质 | 0.4732 | | 0.5098 | | 0.4421 | | 0.4654 | | |
| | A区分(高分子) | 0.062 | 13.99 | 0.067 | 17.06 | 0.0661 | 14.95 | 0.0826 | 17.75 | |
| | B区分(中分子) | 0.078 | 16.48 | 0.092 | 19.26 | 0.0916 | 20.72 | 0.0844 | 18.13 | |
| | C区分(低分子) | 0.329 | 69.53 | 0.326 | 63.67 | 0.2844 | 64.33 | 0.2984 | 64.12 | |
| 成 品 | 总蛋白质 | 0.4698 | | 0.4765 | | 0.4292 | | 0.4522 | | |
| | A区分(高分子) | 0.057 | 12.26 | 0.051 | 12.40 | 0.0390 | 9.08 | 0.0602 | 13.31 | |
| | B区分(中分子) | 0.080 | 17.11 | 0.074 | 15.61 | 0.0776 | 18.08 | 0.0794 | 17.55 | |
| | C区分(低分子) | 0.331 | 70.62 | 0.343 | 71.98 | 0.3126 | 72.83 | 0.3126 | 69.13 | |

表 2 成品啤酒主要质量指标分析结果

| 项 目 | 样 品 | 菠萝蛋白酶 (40万单位/克) 1.5 ppm | 酸性蛋白酶 (32万单位/克) 1 ppm | 酸性蛋白酶 (32万单位/克) 0.5 ppm | 空 白 对 照 |
|--------|-------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------|
| 理化指标 | 酒精 % (重量) | 4.06 | 3.38 | 3.95 | 3.84 |
| | 原浓 % (重量) | 12.334 | 12.155 | 12.226 | 12.094 |
| | 实际发酵度 % | 63.685 | 62.937 | 63.354 | 61.094 |
| | 酸度 1N NaOH 毫升 / 100 毫升 | 2.715 | 2.985 | 2.724 | 2.823 |
| | 色度 0.1 N I ₂ 毫升 / 100 毫升 | 0.42 | 0.40 | 0.42 | 0.44 |
| | 泡沫持久性 | 5 分 10 秒 | 5 分 10 秒 | 5 分 | 5 分 30 秒 |
| 预测保存期 | 冷处理 | | | | |
| | 0℃失光 天数 | | | | 7 |
| | 0℃混浊 天数 | 30 | 30 | 16 | 16 |
| | 冷热处理 (0℃15 小时, 60℃ 9 小时) | 5 个周期 | 5 个周期 | 4 个周期 | 3 个周期 |
| 实际保存期 | | 8 个月 | 8 个月 | 8 个月 | 2 个月 |

注: 12° 光明二级黄啤。

关,特别是在泡沫保持上更为重要。

经分析成品啤酒理化指标合格,添加酸性蛋白酶与空白对照和添加菠萝蛋白酶者无明显区别,预测保存期较好,实际保存期均超过了规定指标(见表 2)。

我们将这次试验样品,由江南第七届啤酒技术协作会议组织各厂代表评酒,代表们一致认为,添加酸性蛋白酶的酒样与空白和添加菠萝蛋白酶的略有差异,添加 0.5 ppm 酸性蛋白酶者基本接近,添加 1 ppm 酸性蛋白酶的酒样泡沫持久性较差,口味略淡。

于 1974 年,我们又在相同的酒基和贮酒条件下,对 12° 黄啤在 0—1 ppm 范围内选择蛋白酶的最适添加剂量,进一步考核了澄清剂效果的重复性。结果表明霉菌酸性蛋白酶作啤酒澄清剂,在下酒时或下酒 20 天(即灌装前两周)加入 0.5 ppm 酸性蛋白酶(32 万单位/克),可相应延长啤酒保存期 1 个月以上。而且啤酒的口味与添加 1—2 ppm 菠萝蛋白酶(40 万单位/克)者基本接近或较淡,其酸度、泡沫持久性无显著差别。