

纯生啤酒与熟啤酒老化与抗氧化水平的初步研究

沈瑶瑶^{1,2}, 刘春风^{1,2}, 李 崎^{*1,2}

(1. 江南大学 教育部工业生物技术重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 通过对 0.45 μm 膜过滤和 62 °C、30 min 巴氏灭菌前后啤酒的 TBA 值、DPPH 清除率、总多酚含量等指标的测定,初步分析了纯生啤酒与熟啤酒因后处理工艺的不同而导致的老化及抗氧化指标上的差异。熟啤酒的巴氏灭菌过程中,加热导致啤酒老化物质增多,醛类质量分数上升 30.85%,老化程度加深,实际生产中 TBA 值因巴氏灭菌上升 1.67%;而纯生啤酒的膜过滤过程使啤酒的内源性抗氧化物质减少,3 种样品中总多酚质量分数分别降低了 9.149%、4.439%、6.022%,实际生产中 DPPH 清除率因膜过滤下降了 3.24%。新鲜的纯生啤酒较熟啤酒老化程度低,口感较好,但由于抗氧化物质少于熟啤酒,在贮存过程中老化速率大于熟啤酒,以致最终老化程度超过熟啤酒。

关键词: 纯生啤酒;熟啤酒;老化;抗氧化

中图分类号:TM 344.1 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2013)07—0718—08

Preliminary Study on Oxidation and Anti-Oxidation Level Between Draft Beer and Pasteurized Beer

SHEN Yao-yao^{1,2}, LIU Chun-feng^{1,2}, LI Qi^{*1,2}

(1. The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In this study, we compared the TBA, DPPH clearance rate and polyphenols of beer filtrated though 0.45 μm membrane with that pasteurized at 60 °C for 30 minutes, analyzing the difference between the two beers which adopted different post-treatment technology. During the pasteurization, the staling compounds generate and the content of aldehydes increases by 30.85%. At the same time, beer aging deepens and TBA increases by 1.67% during pasteurization in real production. Filtration can intercept and adsorb endogenous anti-oxidants in draft beer. So the content of polyphenols decreases by 9.149%、4.439%、6.022% respectively. The DPPH clearance rate

收稿日期: 2012-12-24

基金项目: 国家 863 计划(2013AA102106-03, 2012AA021303); 国家自然科学基金项目(31271919); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD); 江苏省创新基金项目(BC2009291); 111 引智计划; 教育部新世纪人才支持计划项目(NCET-10-0453)。

* 通信作者: 李 崎(1971—), 女, 上海人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事啤酒科学与工程研究。

E-mail: liqi@jiangnan.edu.cn

decreases by 3.24% during filtration in real production. The aging level of fresh draft beer is lower than pasteurized beer, but it has a higher aging rate due to less endogenous anti-oxidants. As a result, the aging level of draft beer will be deeper than pasteurized beer during storage.

Keywords: draft beer, pasteurized beer, oxidation level, anti-oxidation level

我国是世界啤酒生产和消费大国,被消费的啤酒中大部分是熟啤酒,纯生啤酒仅占5%。熟啤酒是经过巴氏灭菌或瞬时高温灭菌的啤酒;纯生啤酒是不经巴氏灭菌或瞬时高温灭菌,而采用物理过滤方法除菌,达到一定生物稳定性的啤酒^[1]。正是由于纯生啤酒没有经过巴氏灭菌,口感新鲜,受到了很多消费者的青睐。相关研究中指出^[2],纯生啤酒的膜过滤阶段会拦截少量蛋白质及多酚物质,同时熟啤酒的巴氏灭菌过程也会加速啤酒的老化,然而对于纯生啤酒与熟啤酒在老化与抗老化方面的对比还没有详细报道。

TBA(硫代巴比妥酸)法是评价啤酒老化程度的较为常见的方法之一^[3]。其原理是通过啤酒中羰基化合物与TBA特异性生色反应来表示啤酒的老化程度^[4-5]。啤酒的四大老化前驱物质氨基酸、高级醇、不饱和脂肪酸和异 α 酸,在啤酒老化过程中会产生老化物质,主要是羰基类化合物。氨基酸会发生Strecker降解生成醛类如2-甲基丙醛和苯乙醛^[6],高级醇可被氧化为相应的醛类,如乙醇在1-羟乙基自由基存在是可生成乙醛^[7],不饱和脂肪酸被认为与啤酒中重要的老化物质反-2-壬烯醛的生成有关^[8],异 α 酸可以在老化过程中会降解为羰基化合物^[9]。

DPPH清除率是评价啤酒抗老化程度的较为常见的方法之一。自由基的存在可以影响啤酒老化物质的形成^[10],啤酒具有一定的内源性抗老化能力,可以清除自由基。DPPH(二苯代苦味酰肼自由基)是一种稳定的自由基,通过测定啤酒对其清除率,可以表示啤酒的抗老化能力^[11]。啤酒中的多酚物质具有还原性,是啤酒的天然抗氧化剂^[12]。其中花色苷是易与蛋白质产生冷混浊的物质,具有一定的抗老化能力。

研究膜过滤以及巴氏灭菌过程对啤酒的影响,考察纯生啤酒与熟啤酒在贮存过程中的老化情况,对啤酒市场具有一定的引导性。作者在系统研究膜过滤以及巴氏灭菌对老化指标、老化前驱物质、老化物质以及抗老化指标、抗老化物质的影响,比较

了纯生啤酒与熟啤酒在老化及抗老化水平方面的差异。这对于纯生啤酒与熟啤酒生产过程中的工艺控制和品质提升具有重要的参考价值。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

试剂:二苯代苦味酰肼自由基(DPPH,纯度90%);购自东京工业株式会社;异 α 酸(64.3%)二环己基胺盐(DCHA)标样:购自ASBC(美国酿造化学家协会);乙腈、甲醇:色谱纯,购自国药集团化学试剂有限公司;硫代巴比妥酸、乙酸、乙醇等:分析纯,均购自国药集团化学试剂有限公司;尼龙66粉:作者所在实验室自制。

材料:0.45 μm 微孔滤膜为混合纤维素膜,购自上海新亚净化器件厂。

酒样:样品1、2、3:不同酒厂的清酒;实际生产酒样:纯生啤酒生产线。

1.2 仪器

UV2100型分光光度计:尤尼柯UNICO(上海)仪器有限公司产品;Waters 600高效液相色谱仪:Waters1525泵,Breeze色谱工作站,美国Waters公司产品;SHZ-22恒温水浴器:江苏省太仓市医疗器械厂产品。

1.3 实验方法

1.3.1 啤酒样品处理方法

1) 实验室模拟处理方法 纯生啤酒:用0.45 μm 微孔滤膜为过滤介质抽滤清酒,备用;熟啤酒:将清酒灌装压盖,62 $^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min后,取出用自来水冷却,备用。图2(a)与图3(a)中3个样品为3个酒厂3条生产线的清酒,分别在实验室模拟条件下做出纯生啤酒与熟啤酒,测定了啤酒的老化指标、老化前驱物质、抗老化指标以及抗老化物质等指标。

2) 实际生产取样方法 图2(b)与图3(b)中酒样取自纯生啤酒生产线(与样品二取自同一酒厂)清酒、0.65 μm 膜滤后、0.45 μm 膜滤后酒样,并将清

酒灌装压盖在酒厂巴氏灭菌机中进行巴氏灭菌。此部分为验证实验室模拟条件下得出的结论,故只测定老化指标、老化物质与抗老化指标等啤酒表观指标。

1.3.2 TBA 测定 TBA 溶液配制:称取 0.165 g 硫代巴比妥酸,加入体积分数 50%乙酸溶液边搅拌边溶解,使其终质量分数为 0.33%。测定:啤酒除气后,取 5 mL 啤酒样品与 2 mL TBA 溶液,摇匀于 60 ℃ 水浴 1 h,自来水冲洗冷却。空白为 5 mL 啤酒样品与 2 mL 蒸馏水,于 530 nm 下比色,以 A 值表示 TBA 值。

1.3.3 醛类测定^[13] SPME-GC-MS 法。

1.3.4 氨基酸^[14]、**异 α 酸测定**^[15] RP-HPLC 法。

1.3.5 高级醇测定^[14] HS-GC 法。

1.3.6 不饱和脂肪酸测定^[14] 液液萃取后,GC 法。

1.3.7 DPPH 清除率测定 DPPH 溶液配置:准确称量 20 mg DPPH,用无水乙醇定容至 250 mL,测定:取 5 mL 除气啤酒于 100 mL 容量瓶中,超纯水定容,即酒样稀释 20 倍。

$$\text{DPPH 清除率} = [1 - (A_i - A_j) / A_c] * 100\%$$

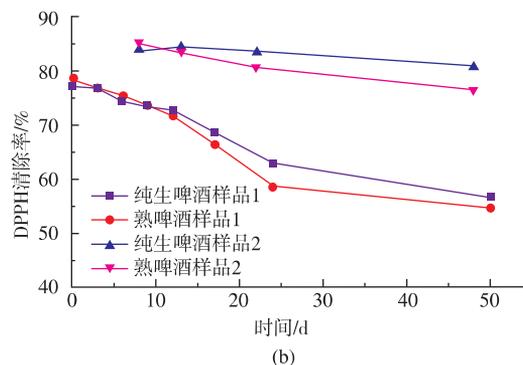
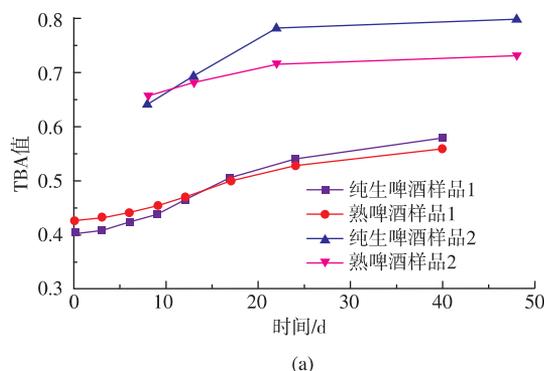
其中: A_i : 2 mL 待测液+2 mL DPPH 的吸光值; A_j : 2 mL 待测液+2 mL 无水乙醇的吸光值; A_c : 2 mL 无水乙醇+2 mL DPPH 的吸光值。混匀后,于暗室中放置 1 h,在 517 nm 下测定吸光值,测 A_i 、 A_j 、 A_c 时均用乙醇作为空白。

1.3.8 总多酚、花色苷测定 比色法。

2 结果与讨论

2.1 纯生啤酒与熟啤酒的老化与抗老化水平跟踪

取同品牌原料相近、生产工艺相近的市售纯生啤酒与熟啤酒,从其生产之日开始贮存,一段时间后取样测其 TBA 值与 DPPH 清除率,结果见图 1。



注:样品 1 为生产包装后一周取到,故没能测到第一个点的数据。由于样品量少,取样间隔时间较长。

图 1 市售纯生啤酒与熟啤酒贮存期内 TBA 值(a)和 DPPH 清除率(b)变化

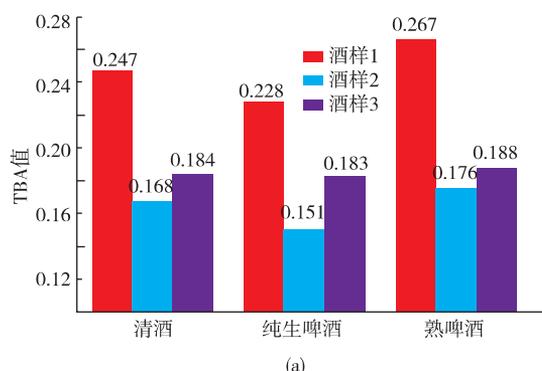
Fig. 1 Variation trend of draft beer and pasteurized beer's TBA (a) and DPPH clearance rate (b)

由图 1 可以看出,原料相近、生产工艺相近的纯生啤酒与熟啤酒相比,起初纯生啤酒的 TBA 值较低,老化程度低于熟啤酒。可见,与纯生啤酒的膜过滤过程相比,熟啤酒的巴氏灭菌过程加速了啤酒的老化,使老化物质尤其是与 TBA 特异性结合的羰基化合物的含量增多。同时,指示啤酒抗老化能力的指标 DPPH 清除率纯生啤酒起初也低于熟啤酒,这可能与膜过滤的过程有关。随贮存时间的延长,在 10~20 d 内,纯生啤酒的老化程度会逐渐超过熟啤酒。熟啤酒中起初的抗老化物质较多,起到了更明显的抗老化作用,使其在贮存过程中较纯生啤酒更有优势,更加稳定,老化速率缓慢。

2.2 纯生啤酒与熟啤酒后处理过程对老化水平的影响

2.2.1 老化指标与老化物质的检测

1) TBA 值的测定 试验分别对 3 种清酒进行膜过滤及巴氏灭菌处理后测定其 TBA 值,结果见图 2。



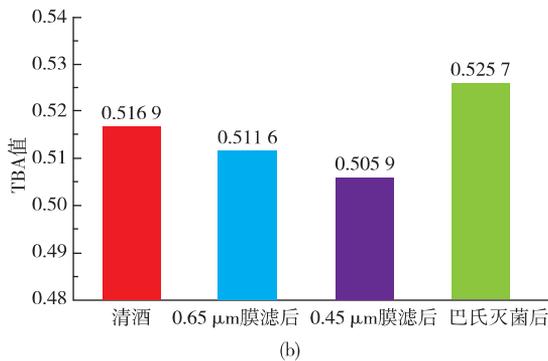


图2 不同除菌方式对模拟生产(a)和实际生产(b)的啤酒TBA值的影响

Fig. 2 Influence of different aseptic way on beer's TBA in imitation (a) or in real production (b)

由图2(a)可知,清酒经模拟纯生啤酒膜过滤处理之后,与未过滤清酒样品相比,其TBA值都有所下降,3种酒样分别下降了10.12%、7.69%、5.44%。微滤膜过滤过程对可与硫代巴比妥酸发生生色反应的物质有一定的截留或吸附作用,从而降低了啤酒的TBA值。而经过巴氏灭菌以后,啤酒样品的TBA值较清酒分别增加了4.76%、8.10%、2.17%,巴氏灭菌过程加速了啤酒老化反应的进程,产生了较多的羰基化合物,虽然微滤和加热两个过程对不同酒样的影响程度不同,但是3种清酒的变化趋势相同。故模拟的相同品牌的纯生啤酒与熟啤酒相比,膜处理较巴氏灭菌工艺酒样的老化程度低,老化物质含量少。

由于0.45 μm膜滤时采用抽滤的方法,纯生啤酒TBA值的降低有可能是羰基化合物挥发导致,为验证微滤过程膜对老化物质有一定截留或吸附作用,取纯生啤酒生产线的清酒、0.65 μm膜滤后酒样、0.45 μm膜滤后酒样,并将装瓶的清酒进行隧道式巴氏灭菌,测定TBA值,结果如图2(b)。

从图2(b)可知,实际生产中的膜过滤与巴氏灭菌对啤酒老化水平的影响与实验室模拟的效果相同,膜过滤后的TBA值也呈递减趋势,因实际生产膜过滤装置是密闭的,故可以证明与硫代巴比妥酸发生生色反应的物质被滤膜截留或吸附,导致最终吸光度的下降,而熟啤酒的TBA值上升了1.67%,最终纯生啤酒的老化水平低于熟啤酒。

2) 老化物质-醛类的检测 试验对清酒分别进行0.45 μm膜过滤及巴氏灭菌后测定其醛类质量分数,结果如表1所示。老化醛类与硫代巴比妥酸

特异性结合,是TBA法的测定基础,从表1中可以看出,膜过滤后啤酒中的醛类物质总量减少了4.11%,而巴氏灭菌过程醛类总质量分数从45.03 mg/L升高到58.92 mg/L,升高了30.85%,这也是TBA值会升高的原因(图2)。故过滤处理会造成啤酒中老化物质减少,而加热使老化物质明显增多,熟啤酒老化程度高于纯生啤酒与清酒。

表1 不同除菌方式对老化醛类质量浓度的影响

Table 1 Influence of different aseptic way on aldehydes (mg/L)

醛类	清酒	纯生啤酒	熟啤酒
2-甲基丙醛	6.16±0.13	5.81±0.19	9.34±0.21
2-甲基丁醛	3.41±0.10	2.55±0.08	4.54±0.12
3-甲基丁醛	10.24±0.21	10.38±0.18	13.92±0.23
戊醛	0.26±0.01	0.60±0.01	0.38±0.01
己醛	0.85±0.02	0.62±0.02	1.72±0.03
糠醛	4.93±0.12	4.89±0.13	6.53±0.14
3-甲硫基丙醛	3.19±0.10	2.83±0.12	3.46±0.12
苯乙醛	15.86±0.31	15.44±0.35	18.92±0.38
反-2-壬烯醛	0.13±0.01	0.06±0.00	0.11±0.00
总量	45.03±1.00	43.18±1.08	58.92±1.24

注:其中反-2-壬烯醛的单位为μg/L,误差较小,约为0。

2.2.2 纯生啤酒与熟啤酒后处理过程老化前驱物质的检测

1) 氨基酸质量浓度的测定 氨基酸是啤酒的四大老化前驱物质之一。啤酒中氨基酸可能是老化物质醛类化合物的来源之一,氨基酸和α-羧酸化合物之间发生反应,即Strecker反应,生成相应的strecker醛。如3-甲硫基丙醛和苯乙醛分别来源于L-蛋氨酸和L-苯丙氨酸,温度高会加速该类反应^[6]。对清酒分别进行0.45 μm膜过滤及巴氏灭菌后测定其氨基酸含量,结果见表2。

从表2中看出,膜过滤后啤酒样品中氨基酸总量分别下降了4.51%、22.59%、7.92%,部分单种氨基酸质量浓度较低,增加或者下降不明显,然而质量浓度较多的单体氨基酸其经过膜过滤之后下降趋势较明显,如2-甲基丙醛的前体缬氨酸质量浓度分别下降4.73%、4.47%、11.43%,脯氨酸的质量浓度分别下降5.66%、26.04%、7.18%。纯生啤酒中氨基酸质量浓度的减少是膜的拦截作用的结果,而熟啤酒中氨基酸质量浓度的减少可能是发生了

表 2 氨基酸质量浓度的测定
Table 2 Content of amino acids

(mg/L)

氨基酸	样品 1			样品 2			样品 3		
	清酒	纯生啤酒	熟啤酒	清酒	纯生啤酒	熟啤酒	清酒	纯生啤酒	熟啤酒
天冬氨酸	0.798±0.03	0.678±0.03	0.532±0.02	2.989±0.12	3.017±0.15	3.021±0.10	6.447±0.13	5.434±0.09	5.367±0.08
谷氨酸	9.244±0.41	8.706±0.23	8.032±0.33	13.88±0.32	11.98±0.25	13.07±0.31	10.93±0.24	8.054±0.16	8.272±0.19
色氨酸	0.336±0.01	0.346±0.01	0.442±0.01	0.395±0.01	0.286±0.00	0.305±0.01	0.138±0.00	0.046±0.00	0.011±0.00
组氨酸	14.58±0.53	14.21±0.42	13.99±0.25	9.456±0.25	9.51±0.31	10.34±0.16	8.392±0.30	8.494±0.28	8.702±0.27
甘氨酸	53.39±1.32	51.46±1.07	51.27±1.28	16.15±0.47	14.33±0.32	19.54±0.48	17.00±0.49	14.24±0.49	14.41±0.36
苏氨酸	6.986±0.18	6.862±0.16	6.824±0.16	6.352±0.09	5.453±0.15	5.939±0.13	5.574±0.05	5.754±0.07	5.681±0.12
精氨酸	19.67±0.46	19.15±0.54	19.15±0.37	0.538±0.01	0.519±0.00	0.581±0.03	17.22±0.35	17.16±0.28	17.85±0.43
丙氨酸	93.31±3.05	91.51±2.87	91.73±3.33	36.37±0.65	25.94±0.84	30.18±0.66	28.53±0.77	25.49±0.89	26.24±0.61
酪氨酸	33.27±0.98	31.85±0.83	33.55±0.84	33.09±0.48	25.7±0.74	28.36±0.57	25.64±0.48	25.12±0.44	25.77±0.25
半胱氨酸	0.786±0.02	0.576±0.02	0.406±0.02	0.696±0.01	0.628±0.02	0.775±0.02	0.765±0.01	0.781±0.02	0.702±0.02
缬氨酸	45.23±1.11	43.09±1.21	44.24±1.04	30.45±0.57	29.09±0.35	30.85±0.52	13.56±0.43	12.01±0.36	12.24±0.34
甲硫氨酸	1.017±0.04	0.238±0.00	0.159±0.00	0.288±0.00	0.28±0.01	0.202±0.00	0.289±0.00	0.257±0.01	0.291±0.01
苯丙氨酸	28.39±0.43	28.20±0.39	27.71±0.43	22.11±0.32	13.64±0.38	14.86±0.24	14.12±0.22	13.17±0.32	13.51±0.18
异亮氨酸	4.654±0.12	4.342±0.06	4.626±0.09	1.306±0.04	0.988±0.03	1.282±0.01	2.306±0.12	1.389±0.09	1.423±0.10
亮氨酸	8.681±0.19	8.351±0.23	8.603±0.17	2.176±0.09	1.436±0.10	2.168±0.03	3.552±0.10	2.758±0.09	2.894±0.08
赖氨酸	1.188±0.07	1.192±0.08	1.103±0.09	1.716±0.12	1.371±0.06	1.396±0.05	0.476±0.01	0.261±0.01	0.242±0.00
脯氨酸	270.4±8.65	255.1±6.32	262.6±3.87	168.2±3.22	124.4±3.29	137.4±2.96	232.7±5.23	216±6.21	237.7±3.94
总量	591.9±17.6	565.2±14.5	574.4±12.3	343.2±6.77	265.6±7.00	297.2±6.28	381.2±5.23	351.0±9.81	358.9±6.98

strecker 降解。从氨基酸这一老化前驱物质出发,熟啤酒比纯生啤酒老化前驱物质质量浓度高,TBA 值较高也证明了熟啤酒经灭菌后老化物质较多。

2) 异 α 酸的测定 试验对清酒样品分别进行 0.45 μm 膜过滤及巴氏灭菌后测定其异 α 酸质量分数及苦味值,结果见表 3。

表 3 异 α 酸质量浓度的测定
Table 3 Content of iso-α acids

(mg/L)

异 α 酸	清酒	纯生啤酒	熟啤酒
样品 1	24.48±0.87	22.73±0.78	23.42±0.90
样品 2	33.20±0.92	31.09±1.00	33.32±1.02
样品 3	33.79±1.07	30.38±0.98	32.82±1.09

从表 3 可以看出,3 种样品经过膜过滤后啤酒中异 α 酸质量浓度都有所下降,而巴氏灭菌后的熟啤酒中异 α 酸质量浓度有升有降,分别降低 4.33%、升高 0.36%、降低 2.87%。与清酒样品相比,

膜过滤过程分别有 7.15%、6.36%、10.09% 异 α 酸被拦截,使啤酒中老化前驱物质质量浓度减少。而熟啤酒中异 α 酸质量浓度的略微降低与加热过程的异 α 酸热降解有关,而其降解产物是不同长度的羰基化合物,即可能生成了老化物质,使熟啤酒的老化程度加深。

3) 高级醇的测定 高级醇是啤酒老化前驱物质之一,在啤酒老化过程中会发生氧化反应及醇醛缩合反应,生成相应的醛类。试验分别对 3 种清酒进行膜过滤及巴氏灭菌处理后测定 3 种高级醇质量浓度,结果见表 4。结果显示,清酒经过膜过滤之后样品 2 的高级醇质量浓度增加了 0.79%,样品 1 和样品 3 分别减少了 4.41%、2.94%,有增有减说明这 3 种重要高级醇质量浓度受膜过滤影响不大,可能与其相对分子质量小,空间结构小有关。而清酒经过巴氏灭菌之后,高级醇质量浓度也是有增有减,变化没有规律,说明巴氏灭菌过程对这 3 种高

表 4 3种高级醇质量浓度测定
Table 4 Content of higher alcohols

(mg/L)

高级醇		正丙醇	异丁醇	异戊醇	总量
样品 1	清酒	10.62±0.26	15.59±0.31	96.17±1.02	122.4±1.59
	纯生啤酒	9.738±0.20	15.07±0.38	92.22±1.21	117.0±1.79
	熟啤酒	10.35±0.34	16.19±0.29	98.63±0.98	125.2±1.61
样品 2	清酒	6.362±0.23	13.37±0.34	81.19±1.19	100.9±1.76
	纯生啤酒	8.625±0.22	13.09±0.39	79.98±1.06	101.7±1.67
	熟啤酒	7.814±0.31	13.52±0.36	81.91±0.97	103.2±1.64
样品 3	清酒	8.067±0.42	14.22±0.38	86.67±0.97	109.0±1.77
	纯生啤酒	7.686±0.18	13.75±0.43	84.32±1.32	105.8±1.93
	熟啤酒	7.748±0.32	13.67±0.53	83.91±1.20	105.3±2.05

级醇的影响不大,且没有规律可循。

4) 不饱和脂肪酸的测定 试验分别对3种清酒进行膜过滤及巴氏灭菌处理后测定脂肪酸,表5中列出了4种不饱和脂肪酸的质量浓度。在老化过程中不饱和脂肪酸会发生自身氧化,生成羰基化合物。由表5可见,经过膜过滤的纯生啤酒中不饱和

脂肪酸的质量浓度分别减少了33.68%、12.5%、20.63%,可见微滤过程对长链的不饱和脂肪酸有一定的截留或者吸附作用。而巴氏灭菌后熟啤酒中的不饱和脂肪酸质量浓度增减没有规律,研究表明^[9]不饱和脂肪酸含量在老化一段时间后才有所减少,故在巴氏灭菌之后,变化不明显。

表 5 不饱和脂肪酸质量浓度测定
Table 5 Content of unsaturated fatty acid

(mg/L)

不饱和脂肪酸		棕榈油酸	油酸	亚油酸	亚麻酸	总量
样品 1	清酒	0.029±0.000 8	2.316±0.073 1	0.062±0.001 2	0.020±0.001 0	2.426±0.076 1
	纯生啤酒	0.020±0.000 3	1.589±0.069 3	-	-	1.609±0.069 6
	熟啤酒	0.020±0.000 9	2.765±0.068 3	0.048±0.001 5	0.020±0.000 9	2.853±0.071 6
样品 2	清酒	-	0.040±0.000 9	-	-	0.040±0.000 9
	纯生啤酒	-	0.035±0.000 7	-	-	0.035±0.000 7
	熟啤酒	-	0.036±0.000 7	-	-	0.036±0.000 7
样品 3	清酒	0.016±0.000 3	0.083±0.001 2	0.022±0.001 0	0.005±0.000 1	0.126±0.002 6
	纯生啤酒	0.008±0.000 1	0.064±0.001 5	0.017±0.000 6	0.005±0.000 1	0.094±0.002 3
	熟啤酒	0.017±0.000 4	0.110±0.003 0	0.041±0.000 9	0.012±0.000 1	0.180±0.004 4

注:“-”表示未检出。

2.3 纯生啤酒与熟啤酒后处理过程对抗老化水平的影响

2.3.1 DPPH 清除率的测定 试验对清酒分别进行0.45 μm 膜过滤及巴氏灭菌后测定其DPPH清除率,结果见图3。

由图3(A)可见,清酒经过膜过滤以后,3种酒样的DPPH清除率分别下降了3.974%、1.291%、4.340%,即其抗老化能力下降。而经过巴氏灭菌后的DPPH清除率也略有下降,但下降幅度很小。模

拟的纯生啤酒的抗老化能力不如清酒与熟啤酒,其DPPH清除率下降的主要原因可能是啤酒膜过滤过程截留或吸附了内源性抗老化物质。加热过程中啤酒中产生大量自由基,加热的过程会加速啤酒中物质的自由运动,增加碰撞并结合的几率,使啤酒中更多的抗老化物质与自由基结合,故测定DPPH清除率时,可与DPPH自由基结合的抗老化物质减少,使的DPPH清除率略微下降。

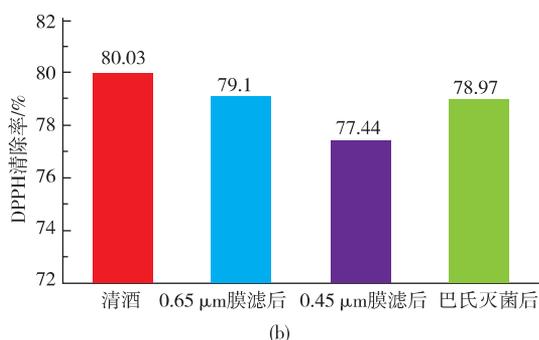
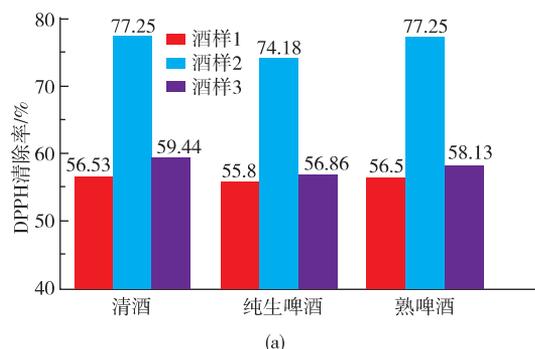


图3 不同除菌方式对模拟(a)和实际生产(b)的啤酒 DPPH 清除率的影响

Fig. 3 Influence of different aseptic way on beer's DPPH clearance rate in imitation (a) or in real production(b)

取纯生啤酒生产线的清酒、0.65 μm 膜过滤之后的啤酒、0.45 μm 膜过滤之后的啤酒,并将清酒装瓶进入隧道式巴氏灭菌机进行巴氏灭菌,并测 4 种酒样的 DPPH 清除率,结果见图 3(b)。深层膜过滤与实验室的单层膜过滤有相同效果,可机械截留或者深层吸附抗老化物质,经过两道膜过滤之后,啤酒的 DPPH 清除率下降了 3.24%,而隧道巴氏灭菌与实验室模拟的灭菌结果相似,使 DPPH 清除率下降了 1.32%,小于膜过滤对其的影响。故模拟与生产中,纯生啤酒比熟啤酒的抗老化能力都要弱。

2.3.2 总多酚及花色苷的测定 试验对清酒分别进行 0.45 μm 膜过滤及巴氏灭菌后测定其总多酚质量浓度见图 4,酒样 1 的花色苷质量浓度见表 6。

表 6 不同除菌方式对花色苷质量浓度的影响

Table 6 Influence of different aseptic way on anthocyanin

种类	花色苷质量浓度/(mg/L)
清酒	46.6±0.87
纯生啤酒	37.4±0.85
熟啤酒	45.6±0.96

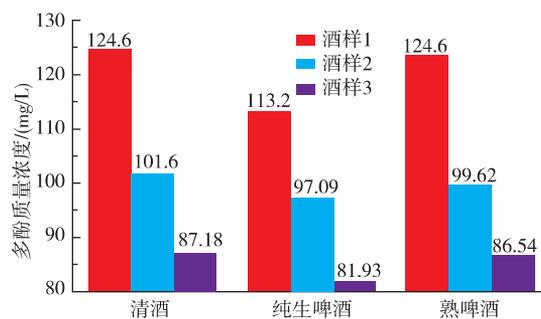


图 4 不同除菌方式对多酚质量浓度的影响

Fig. 4 Influence of different aseptic way on Total polyphenols and anthocyanin

由图 4 可以看出,总多酚在经过膜滤后质量浓度分别降低了 9.149%、4.439%、6.022%,酒样 1 中花色苷质量浓度降低了 19.74%。多酚中儿茶酸类、花色素原和活性蛋白质低温下易聚合形成大颗粒物质,造成啤酒“冷混浊”,在纯生啤酒冷过滤时易被滤掉,这也是纯生啤酒 DPPH 清除率下降(图 3)的原因之一。膜过滤使纯生啤酒中花色苷下降了 19.74%,这也成为纯生啤酒 DPPH 清除率下降的潜在原因之一。而熟啤酒中总多酚、花色苷的质量浓度与清酒相当,可见巴氏灭菌的过程对总多酚、花色苷的影响较小,这也是巴氏灭菌对 DPPH 清除率影响较小的原因。

3 结语

从表征啤酒老化程度的指标 TBA 值看,膜过滤过程对可与 TBA 发生特异性显色反应的物质有过滤或者吸附,使纯生啤酒的 TBA 值低于清酒,老化程度降低。而清酒经过巴氏灭菌后,TBA 值升高,醛类含量升高,熟啤酒的老化程度加深。

从啤酒四大老化前驱物质上看,膜过滤对氨基酸、异 α 酸和不饱和脂肪酸有一定的截留作用,从而使纯生啤酒中老化前驱物质含量较清酒少。而巴氏灭菌过程对这 4 种老化前驱物质质量浓度的影响不明显。从相同清酒得到的纯生啤酒与熟啤酒相比,纯生啤酒中老化前驱物质较熟啤酒中少。故贮存初期,纯生啤酒的老化程度低于熟啤酒,且老化前驱物质也少于熟啤酒,在口感及新鲜度上优于熟啤酒。

熟啤酒经过巴氏灭菌后,对抗老化指标 DPPH 清除率有较大贡献的多酚物质在加热过程中含量减少幅度较小,故抗老化能力只是略有下降。而不论是平板膜过滤的模拟酒样还是深层膜过滤的真

正纯生啤酒,其抗老化能力都不及清酒以及熟啤酒。这是纯生啤酒在贮存期内老化速率快于熟啤酒甚至慢慢赶超熟啤酒老化程度的原因之一。

综上,加热是啤酒老化加速的重要原因之一,巴氏灭菌过程加速了啤酒的老化,老化物质明显增多,同时也微量损耗了啤酒中的抗老化物质。而膜

过滤拦截或吸附了部分抗老化物质以及羰基化合物,降低了纯生啤酒的抗老化能力,同时使老化程度也略有降低。贮存过程中熟啤酒比纯生啤酒稳定稍好:熟啤酒在初期的老化程度高于纯生啤酒,但是由于抗老化物质含量较多,在长期贮存时,比纯生啤酒更有优势,老化速率低于纯生啤酒。

参考文献:

- [1] 周广田,李宁,任金艳. 纯生啤酒的特点和生产管理的重点[J]. 酿酒科技,2007,5(155):118-121.
ZHOU Guang-tian,LI Ning,REN Jin-yan. The characteristics of draught beer and the key points in production management[J]. **Brewing Technology**,2007,5(155):118-121.(in Chinese)
- [2] 王晓丽,傅学起,张嘉琪. 有机微滤膜处理对啤酒品质的影响[J]. 安徽农业科学,2009,37(16):7663-7665.
WANG Xiao-li,FU Xue-qi,ZHANG Jia-qi. Study on the influence of organic microfiltration on beer quality [J]. **Journal of Anhui Agri Sci**,2009,37(16):7663-7665. (in Chinese)
- [3] 刘景,董建军,李崎,等. 啤酒老化综合评价指标的初步研究[J]. 食品与发酵工业,2008,34(8):37-41.
LIU Jing,DONG Jian-jun,LI Qi,et al. Preliminary study on complex evaluation indices of beer aging [J]. **Food and Fermentation Industries**,2008,34(8):37-41. (in Chinese)
- [4] Grugsby J H,Palamand S R. The use of thiobarbituric acid as a mean of the degree of beer staling [J]. **Am Soc Brew Chem**,1976(34):89-98.
- [5] Sun Q,Faustman C,Senecal A et al. Aldehyde reactivity with 2-thiobarbituric acid and TBARS infreeze-dried beef during accelerated storage[J]. **Meat Science**,2001(57):55-60.
- [6] Ke Ding,Dawei Ma. Asymmetric synthesis of α,α -disubstituted amino acids by diastereoselective functionalization of enantiopure phenyloxazinones,derivatives of asymmetric Strecker reaction products of aldehydes[J]. **Tetrahedron**,2001(57):6361-6366.
- [7] Andersen M L,Skibsted L H. Electron spin resonance spin trapping identification of radicals formed during aerobic forced aging of beer[J]. **J Agric Food Chem**,1998(46):1272-1275.
- [8] Stephenson W H,Biawa J P,Miracle R E,et al. Laboratory-scale studies of the impact of oxygen on mashing [J]. **J Inst Brew**,2003(109):273-283.
- [9] Huvaere K,Andersen M L,Olsen K,et al. Radicaloid-type oxidative decomposition of beer bittering agents revealed[J]. **Chemistry-a European Journal**,2003(9):4693-4699.
- [10] 严敏,李崎,顾国贤. 浅谈自由基与啤酒风味老化[J]. 啤酒科技,2005(4):22-27.
YAN Min,LI Qi,GU Guo-xian. Some relationship between free radicals and beer flavor staling [J]. **Beer Science and Technology**,2005(4):22-27. (in Chinese)
- [11] 严敏,李崎,顾国贤. 一个评价啤酒老化程度的新指标-DPPH清除率[J]. 食品科技. 2006,31(3):91-93,100.
YAN Min,LI Qi,GU Guo-xian. A new index to estimate the extent of beer staling-the DPPH-scavenging ratio[J]. **Food Science and Technology**,2006,31(3):91-93,100. (in Chinese)
- [12] 李崎,李永仙,郑飞云,等. 啤酒多酚物质对啤酒风味稳定性的影响[J]. 食品与生物技术学报. 2007,26(2):1673-1689.
LI Qi,LI Yong-xian,ZHENG Fei-yun,et al. Influence of beer polyphenol on beer flavor stability [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2007,26(2):1673-1689. (in Chinese)
- [13] 王憬,崔巍伟,王莉娜,等. 采用固相微萃取-气相色谱-质谱法分析啤酒中醛类化合物[J]. 食品与发酵工业,2009,35(6):170-176.
WANG Jing,CUI Wei-wei,WANG Li-na,et al. Analysis of aldehydes in beer using headspace solid phase microextraction with gas chromatography/mass spectrometry[J]. **Food and Fermentation Industries**,2009,35(6):170-176. (in Chinese)
- [14] 刘景. 啤酒风味老化评价及机理的研究[D]. 无锡:江南大学,2008.
- [15] 张吉磊,郑飞云,李崎,等. 啤酒中异 α 酸和蛋白质含量对啤酒泡持性的影响[J]. 食品与生物技术学报,2010,29(6):905-910.
ZHANG Ji-lei,ZHENG Fei-yun,LI Qi,et al. Effect of iso- α acid and protein content in beer on beer foam retention[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2010,29(6):905-910. (in Chinese)