

超声振荡法评价啤酒泡沫稳定性

韩宇鹏^{1,2}, 王金晶^{1,2}, 李 崎^{*1,2}

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

摘要: 利用超声振荡仪进行起泡,使用量筒以及秒表测定啤酒泡沫的稳定性。在单因素确定实验条件的基础上,利用响应面分析法中的中心旋转组合实验,优化得到超声振荡法的最佳实验条件:样品预处理温度 20 ℃,超声振荡频率 28 kHz,超声振荡时间 15 s。影响超声振荡法测定啤酒泡持值的 3 种因素中,样品预处理温度>超声振荡频率>超声振荡时间。通过与国标秒表法以及仪器法测定市售啤酒泡持值的比较,可得出超声振荡法可以准确且较为方便的反映出瓶装以及罐装啤酒泡沫的稳定性,适合快速简便的比较啤酒之间泡沫稳定性的差异。

关键词: 泡沫稳定性;泡持值;超声振荡;响应面分析

中图分类号:TS 262 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2017)10—1016—06

A Method to Evaluate the Beer Foam Stability by Ultrasonic Vibration

HAN Yupeng^{1,2}, WANG Jinjing^{1,2}, LI Qi^{*1,2}

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

Abstract: In our experiments, ultrasonic vibration and stopwatch were used to measure beer foam stability. On the basis of single factor experiments, the central composite rotatable of surface response analysis determined the optimized conditions of ultrasonic vibration method. The optimized experimental condition was that the pretreatment temperature of sample was 20 ℃, the ultrasonic vibration frequency was 28 kHz, and the ultrasonic vibration time was 15 s. Meanwhile, the results also showed the effect degree of three single factors was as follows: pretreatment temperature > ultrasonic vibration frequency > ultrasonic vibration time. Through comparative analysis between ultrasonic vibration method and Chinese standard methods, the results showed that the ultrasonic vibration method could accurate and portable to detect the foam stabilities of canned and bottled beer, and the method could be used to compare the diversities of beer foam stability.

Keywords: foam stability, foam retention value, ultrasonic vibration, response surface analysis

收稿日期: 2015-10-10

基金项目: 国家 863 计划项目(2012AA021303, 2013AA102106-03); 国家自然科学基金项目(31271919, 31301539); 国家重点实验室建设项目(SKLF-ZZA-201501); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。

作者简介: 韩宇鹏(1990—), 男, 江苏徐州人, 发酵工程博士研究生, 主要从事啤酒泡沫以及泡沫蛋白的研究。E-mail: hanson465078@126.com

* 通信作者: 李 崎(1971—), 女, 上海人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事啤酒酿造科学研究。E-mail: liqi@jiangnan.edu.cn

引用本文: 韩宇鹏, 王金晶, 李崎. 超声振荡法评价啤酒泡沫稳定性[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(10): 1016-1021.

啤酒是世界销量最大的酒精类饮品。啤酒的品质受到许多因素的影响,其中啤酒泡沫是影响啤酒质量的重要特征之一。啤酒泡沫的性质主要包括泡沫洁白程度、泡持性、挂杯性等^[1],其中泡沫稳定性是体现啤酒泡沫差异的最直接的特性之一^[2]。啤酒泡沫稳定性的测定方法有很多,目前国内使用较多的为秒表法、仪器法、NIBEM法、Rudin法、瞬时起泡法等^[3],而各种方法之间都有其优点和局限性^[4]。啤酒泡沫稳定性也受到诸多的因素影响^[5-6]。随着研究的进行,对啤酒泡沫的研究越来越深入,已经探明的影响啤酒的起泡因素也逐渐增加,其中包括糖类、蛋白质、金属离子、多酚、蛋白酶A、CO₂等^[7-10]。啤酒中本身所溶解的CO₂是泡沫产生的起因,同时啤酒的起泡能力直接影响啤酒的泡沫稳定性。因此利用啤酒中本身溶解的CO₂进行起泡^[11],相比通入外源气体起泡更能够反映啤酒本身所具有的泡沫特性^[12-13]。Ross和Clark提出啤酒起泡后,在泡沫塌陷过程中,其剩余泡沫相当的酒液体积的对数与时间呈线性关系^[14-15]。同时Rudin法验证了此原理在较小体积以及恒定条件下的可靠性,并采用此原理建立测定啤酒泡沫稳定性的方法^[12]。因此作者采用此原理,改进其起泡的方式,运用超声振荡仪进行振荡,释放啤酒自身所溶解的CO₂,建立评价啤酒泡沫稳定性的方法。同时以泡持值为判定指标,在单因素结果的基础上,采用中心旋转组合实验对超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的条件进行优化和验证^[16-18]。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 原料 市售成品啤酒。

1.1.2 仪器 超声振荡仪(最大频率40 kHz):昆山产品仪;泡持测定仪:荷兰HAFFMANS公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的操作方法 将待测啤酒样品置于恒温水浴中30 min,使用250 mL量筒准确量取适当体积的啤酒样品,量取过程应尽量避免泡沫的产生。将量筒置于超声振荡仪中,使用一定的超声频率进行超声振荡,使啤酒中溶解的CO₂释放,形成的泡沫在量筒中上升。超声适当的时间后停止振荡,泡沫开始塌陷并回复成液体,同时开始计时并读取液体的体积,对同一样品

多次进行上述的测定,取平均值进行统计。

1.2.2 啤酒泡沫泡持值的计算 进行1.2.1所述实验时,记录振荡开始后所用的时间 t 以及液体的体积 V_{Liquid} ,此时形成泡沫的液体的体积为 V_{Foam} ,即 $V_{\text{Foam}}=(V_{\text{Total}}-V_{\text{Liquid}})$ 。以 V_{Foam} 的自然对数值为纵坐标,时间 t 为横坐标,取时间 t 为30、60、90、120、150、180、210 s共7个点作图,求出其线性趋势方程和 R^2 值,由趋势方程获得方程的斜率 k ,如图1。

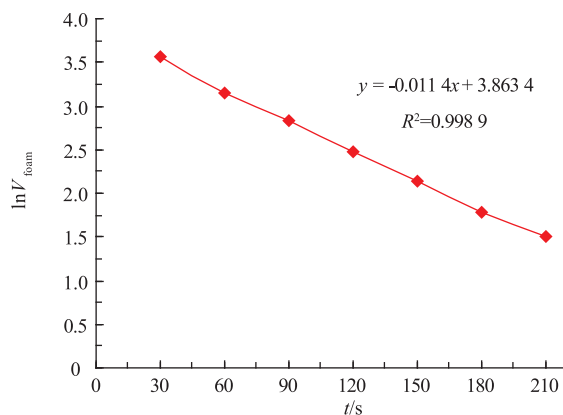


图1 超声振荡法测定啤酒泡沫衰减速率图

Fig. 1 Foam decay rate of beer sample by ultrasonic vibration

理想条件下,当时间 $t=0$ s时为所取得啤酒液体全部形成泡沫,所以得到的方程在纵坐标的截距应为 $\ln V_{\text{total}}$ 。而实际测定过程中,由于啤酒液面在泡沫最开始阶段上升较快,秒表记录时已经出现泡沫向液体的转化,因此记录的时间 t 应该加以 t_0 进行修正,而当计时开始的任意两个时间点 t_1 以及 t_2 ,其修正后的时间差应为 $[(t_2+t_0)-(t_1+t_0)]=(t_2-t_1)$ 。对于同种样品的测定,其液面经过任意体积差之间的时间差是不变的,因此其所得方程的斜率 k 并不受到修正时间 t_0 的影响。而修正后的方程应为 $\ln V_{\text{foam}}=-kT+\ln V_{\text{total}}$ 。当利用啤酒溶解的CO₂时,酒液并不能完全形成泡沫,作者以样品酒液的半衰期 T_{HRV} 作为衡量该样品泡沫稳定性的指标,记为泡持值 T_{HRV} (见式1)。

$$T_{\text{HRV}} = \frac{\ln V_{\text{Total}}}{-2k} \quad (1)$$

式中: V_{Total} 为所取啤酒样品的总体积。

1.2.3 超声振荡法单因素实验 在使用超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的实验中,分别研究不同样品体积、超声振荡频率、超声振荡时间以及样品的预处理温度对啤酒泡沫稳定性的影响,确定各实验

因素的优化区间。其实验过程中,所选取的单因素条件如下:待测啤酒样品体积分别为 30、40、50、60、70、80 mL;样品预处理温度分别为 5、10、15、20、25 °C;超声振荡频率分别为最大频率的 40%(16 kHz)、50%(20 kHz)、60%(24 kHz)、70%(28 kHz)、80%(32 kHz)、90%(36 kHz)、100%(40 kHz);超声振荡时间分别为 5、10、15、20、25 s,每次实验做 3 组平行。

1.2.4 响应面法优化超声振荡法的测定条件 根据单因素实验结果,选取酒样的预处理温度、超声振荡频率、超声振荡时间 3 个因素为自变量,同时以泡持值作为响应值,进行中心旋转组合响应面实验分析,共设计 20 组实验,由单因素实验结果确定以上实验的优化区间。每次实验做 3 组平行,实验结果使用 Design-Expert.8.05b 软件建立方差分析模型,分析其主效应因素。

1.2.5 模型的验证 通过响应面分析以及单因素实验优化确定超声振荡法测定啤酒泡沫泡持值的测定条件,并通过比较预测值和实验值来验证方法的有效性。

1.2.6 超声振荡法与国标法测定啤酒泡沫泡持值的比较 分别采用超声振荡法、国标秒表法测定 10 种市售罐装啤酒样品的泡持值,以及超声振荡法、国标仪器法测定 10 种市售瓶装啤酒样品的泡持值,同时分析啤酒泡沫泡持值的测定结果。

2 结果与分析

2.1 待测样品体积对超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的影响

将待测样品置于 20 °C 恒温水浴 30 min 后进行测量。确定超声振荡频率为 40%(16 kHz),超声振荡时间为 5 s,测定不同样品体积超声振荡结束后总体积以及泡沫体积的变化,分析其酒液起泡情况,结果如表 1 所示。在最小超声振荡频率,以及最短超声时间的条件下,当样品量为 60 mL 时,此时泡沫体积/样品体积比值最大,即在此条件下,60 mL 样品体积相比较其它样品体积,超声结束时泡沫最丰富。当样品体积小于 60 mL 时,其泡沫体积/样品体积比值小于 2.06,说明此时泡沫可能已经开始塌陷。如若采用较小的体积进行测定,可能会增大其泡沫稳定性数值的误差。而样品大于 60 mL 时,泡沫体积/样品体积的比值也小于 2.06,且随着体积的增大,比值变小,说明此条件下样品超声后起泡可

能并不完全,但考虑到 Rudin 法验证了在较小体积此方法原理的可靠性更高,之后的测定都采用样品体积为 60 mL 进行。

表 1 不同样品体积超声振荡起泡后总体积与泡沫体积分析
Table 1 Analysis the foam and total volumes of different volume of beer samples after ultrasound vibration

样品总体积/mL	超声振荡结束时总体积/mL	超声振荡结束时酒液体积/mL	超声振荡结束时泡沫体积/mL	泡沫体积/样品总体积
30	64	6	58	1.93
40	88	8	60	2.00
50	110	6	102	2.04
60	136	12	124	2.06
70	160	18	142	2.02
80	181	22	159	1.99

2.2 待测样品预处理温度对超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的影响

为探究待测样品预处理温度对啤酒泡沫稳定性的影响,将样品分别置于在 5、10、15、20、25 °C 恒温水浴中 30 min,采用超声振荡频率为总频率的 40%(16 KHz),超声振荡时间为 15 s 的相同条件,测定不同样品预处理温度对啤酒泡沫泡持值的影响,结果如图 2 所示。

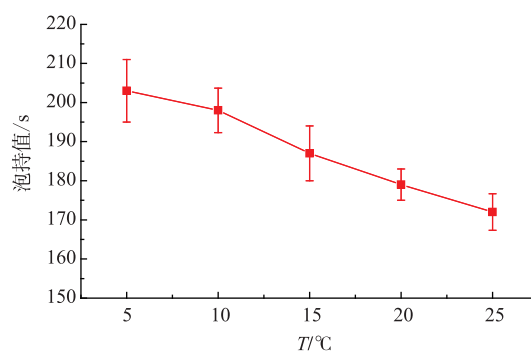


图 2 待测样品预处理温度对啤酒泡沫稳定性测定的影响
Fig. 2 Effects of pretreatment temperature on the foam stability of beer sample

由图 2 所示,泡沫的泡持值随着样品预处理温度的升高而不断降低,且温度越高,泡持值越低,同时分析所测温度范围内泡持值变化的范围,数值变化较大,说明温度对泡持值的影响较大。分析其原因可能为温度越高,啤酒中 CO₂ 溶解度越低,超声振荡后啤酒中溶解的 CO₂ 释放较快,导致啤酒泡沫中单个气泡体积增大,使得啤酒泡沫的表面粘度下

降,从而啤酒泡沫的稳定性下降,泡持值也随之降低^[5]。虽然低温有利于测得较大的泡持值,但是由于实验过程中低温较难维持,且国标法和 Rudin 法其实验都在 20 ℃下进行,同时 20 ℃处理后测定的泡持值相对误差最小,较为稳定。因此后续实验将样品预处理温度定为 20 ℃,同时在进行响应面实验分析时,20 ℃也为中心旋转组合设计时的温度中心点。

2.3 超声振荡频率对超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的影响

将 60 mL 待测样品置于 20 ℃水浴中恒温处理 30 min,并将超声振荡时间定为 15 s,分别采用不同的超声振荡频率,即 40%(16 kHz)、50%(20 kHz)、60%(24 kHz)、70%(28 kHz)、80%(32 kHz)、90%(36 kHz)、100%(40 kHz),测量其不同超声振荡频率下的泡持值,结果如图 3 所示。

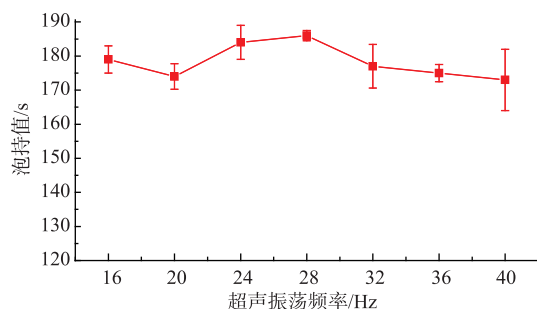


图 3 不同超声振荡频率对啤酒泡沫稳定性测定的影响

Fig. 3 Effects of ultrasonic vibration frequency on the foam stability of beer sample

由图 3 可知,当超声振荡频率为最大频率的 70%(28 kHz)时,所测得泡持值最大,且多次实验的误差最小。当频率低于 70%(28 kHz)时,所测泡持值出现波动,且多次测定的实验误差也增大。而当超声振荡频率高于 70%(28 kHz)时,测定的泡持值下降,且多次实验测定的稳定性也随之下降,其可能为随着超声振荡频率的增加,气体释放较为剧烈,且振荡频率增大后所形成的气泡所处环境相比较也不够稳定,气体增大后粘度也相对下降,导致其气体容易破裂。考虑实验过程中测定泡持值数据的大小以及测定结果的稳定性,因此选择超声振荡频率为最大频率的 70%(28 kHz)时,更能准确反映出啤酒泡沫的稳定性。分析超声振荡频率范围内测定的泡持值的变化可知,其测定的泡持值的变化范围相对于样品预处理温度对泡持值的影响更小,其测定结果受超声振荡频率影响也相对较小。

2.4 超声振荡时间对超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的影响

将 60 mL 待测啤酒样品置于 20 ℃水浴中恒温处理 30 min,同时将超声振荡频率确定为最大频率的 40%(16 kHz),改变超声振荡时间,确定不同超声振荡时间对啤酒泡沫稳定性测定的影响。选取超声振荡时间分别为 5、10、15、20、25 s,所测定的泡持值的结果如图 4 所示。

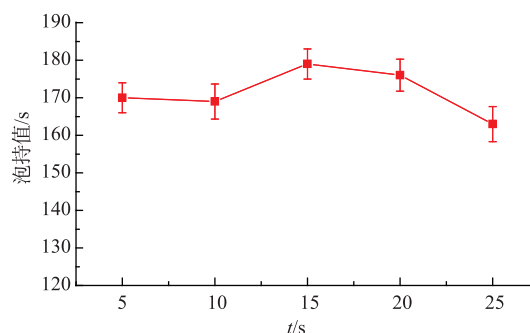


图 4 不同超声振荡时间对啤酒泡沫稳定性测定的影响

Fig. 4 Effects of ultrasonic vibration time on the foam stability of beer sample

当超声振荡时间为 15 s 时,所测得的泡持值最大,同时多次实验的稳定性也相对较好。当超声振荡时间小于 15 s 时,所测泡持值基本相同且和最大值有一定的差距。而当超声振荡时间大于 15 s 时,所测得的泡持值也随着超声振荡时间的增加而减小,可能是由于超声振荡时间过长使得产生的泡沫不均匀稳定,易破裂。分析整个超声振荡时间范围内其对泡持值测定的影响可知,其所测定的泡持值变化最小,故超声振荡时间对泡持值测定的影响相对最小。

2.5 响应面分析实验对超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的条件优化

以样品预处理温度 A、超声振荡时间 B、超声振荡频率 C 为自变量进行响应面分析实验。

使用 Design-Expert.8.05b 响应面分析软件进行二次多项回归方程拟合,所得到的多元二次回归方程如下:

$$Y = 183.37 - 2.55A - 0.83B - 1.40C + 0.50AB + 0.50AC + 0.75BC - 0.93A^2 - 5.18B^2 - 2.32C^2$$

所测泡持值的预测值和实际值的结果如图 5 所示。模型 $p < 0.0001$,模型较为显著,其决定系数 (R-Squared) 为 0.9481,校正系数 (Adj R-Squared)

为 0.9013, 此方程能够比较好的反映出各个影响因素之间的关系。

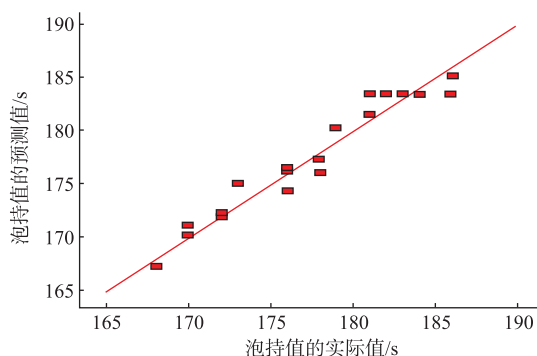


图 5 泡持值的预测值与实际值的对象关系结果

Fig. 5 Correspondence between predict value and actual value of beer head retention value

样品处理温度控制在 15~25 °C, 超声振荡频率控制在最大频率的 50%(20 kHz)~90%(36 kHz), 超声振荡时间控制在 10~20 s。实验可知: 测定的泡持值随着样品预处理温度的升高而下降, 同时测定的泡持值在超声振荡频率为总频率的 70%(28 kHz) 左右达到最大。样品预处理温度在 15~25 °C, 超声振荡时间为 10~20 s 范围内, 测定的泡持值随着温度的升高而减小, 同时超声振荡时间在 15 s 左右时, 可取得测定泡持值的极值。超声振荡频率控制在总频率的 60%(24 kHz)~80%(32 kHz) 之间, 超声振荡时间在 13~16 s 之间可以获得测定泡持值的最大值。

预处理温度、超声振荡频率对于泡持值的影响较为显著, 而超声振荡时间对于泡持值测定的影响并不显著。而从 3 种单因素对于测定啤酒泡沫泡持值的影响结果可知, 啤酒样品的预处理温度对于测定泡持值的影响最大, 而超声振荡频率对于测定泡持值的影响位于其次, 超声振荡时间对于测定泡持值的影响相对于另外两种因素最小, 响应面分析实验的结果同时也符合单因素实验的结论。而交互相中, 3 种单因素中两两因素的交互作用对于泡持值的测定并没有显著的影响, 说明超声振荡法测定啤酒泡沫泡持值时, 3 种影响因素之间为独立影响于测定值, 各因素之间并没有相互的影响关系。根据响应面分析所得的多元二次回归方程的 3 个影响因素绝对值的大小可以判断出 3 个因素对于超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的影响程度顺序为样品预处理温度>超声振荡频率>超声振荡时间。

2.6 超声振荡法与国标法的比较

为验证超声振荡法可以较为方便的反映出啤酒泡沫的稳定性, 同时使用超声振荡法、国标秒表法以及国标仪器法分别测定 10 种市售罐装以及 10 种市售瓶装啤酒的泡持值进行比较。如图 6 所示为使用国标秒表法以及超声振荡法测定这 10 种罐装啤酒的泡沫稳定性的结果, 两种方法都可以反映罐装啤酒泡沫稳定性的不同, 且呈现一致的趋势; 如图 7 所示为使用国标仪器法以及超声振荡法测定 10 种市售瓶装啤酒的泡持值, 其泡持值的测定结果显示两种方法保持了一样的趋势和一致性的结果。通过对比可知, 超声振荡法相对于国标秒表法以及国标仪器法所测定的泡沫稳定性的差异具有一致性。因此超声振荡法可以较为方便的测定罐装以及瓶装啤酒的泡沫稳定性, 反映出不同啤酒之间泡沫稳定性的差异。

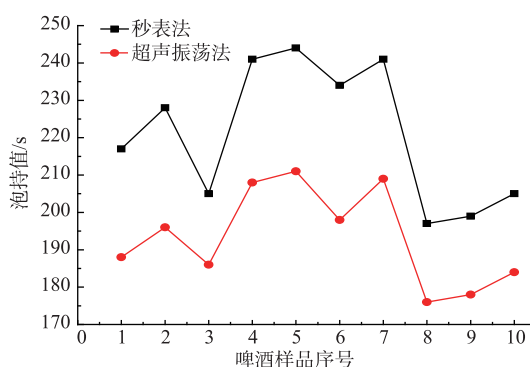


图 6 国标秒表法与超声振荡法测定 10 种罐装啤酒泡持值

Fig. 6 Head retention values of 10 canned beer samples by stopwatch method and ultrasonic vibration method

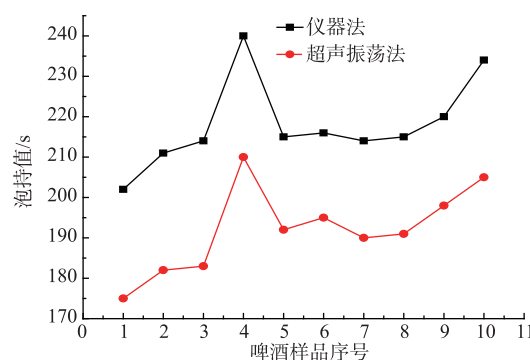


图 7 国标仪器法与超声振荡法测定 10 种瓶装啤酒的泡持值

Fig. 7 Head retention values of 10 bottled beer samples by instrumental method and ultrasonic vibration method

3 结 语

通过单因素实验以及响应面的分析结果可知,3个影响测定的单因素对超声振荡法测定啤酒泡沫稳定性的影响程度的排序为:样品预处理温度>超声振荡频率>超声振荡时间。

通过单因素实验和响应面实验分析结果可得到超声振荡法测定啤酒泡沫泡持值的优化条件为:

样品预处理温度 20 ℃,超声振荡频率为 28 kHz,超声振荡时间为 15 s。

通过对比超声振荡法与国标秒表法、仪器法测定市售啤酒样品泡持值的实验结果可知:超声振荡法可以较为方便和准确的反映出瓶装以及罐装啤酒泡沫的稳定性,适合快速简便的比较啤酒之间泡沫稳定性的差异。

参考文献:

- [1] BAMFORTH C. The foaming properties of beer[J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 1985, 91(6):370-383.
- [2] GARC A-CASADO G, CRESPO J F, RODR GUEZ J, et al. Isolation and characterization of barley lipid transfer protein and protein Z as beer allergens[J]. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 2001, 108(4):647-649.
- [3] HACKBARTH J J. Multivariate analyses of beer foam stand[J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 2006, 112(1):17-24.
- [4] SHARPE F. Collaborative determination of beer foam stability by Rudin and Nibem [J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 1997, 103(5):277-278.
- [5] BAMFORTH C. Perceptions of beer foam[J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 2000, 106(4):229-238.
- [6] ZHANG Yinglu, SUN Linlin, LU Jian, et al. Enzymatic hydrolysates of wheat gluten as foaming proteins in beer [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009(6):822-827. (in Chinese)
- [7] LI Weihu, ZHENG Feiyun, LIU Chunfeng, et al. Secondary structure characteristic and mass spectrometry identification of beer foam proteins[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(9):918-24. (in Chinese)
- [8] LI Qi, LI Yongxian, ZHENG Feiyun, et al. Influence of beer polyphenol on beer flavor stability[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2007, 26(2):102-106. (in Chinese)
- [9] ZHANG Jilei, ZHENG Feiyun, HAO Junguang, 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)
- [10] SONG Qun, LIU Chunfeng, LI Yongxian, et al. Effect factors of proteinase a secretion in beer fermentation process[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2013, 32(6):667-671. (in Chinese)
- [11] JACKSON S. Factors affecting beer foam i. Carbon dioxide evolution [J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 1953, 59(4):317-322.
- [12] RUDIN A. Measurement of the foam stability of beers[J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 1957, 63(6):506-509.
- [13] YE Junhua, FU Zhaohui, LU Jian, et al. Application of the improved Rudin Method in the analysis of beer foam stability[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2004, 24(11):30-32. (in Chinese)
- [14] ROSS S, CLARK G. On the measurement of foam stability with special reference to beer [J]. **Wallerstein Lab Commun**, 1939, 6:46-54.
- [15] KLOPPER D. On head retention[J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 1954, 60(3):217-222.
- [16] CHEN Jian, SUN Aidong, GAO Xuejuan, et al. Process optimization for ultrasonic-assisted solvent extraction of proanthocyanidins from areca catechu L. Fruit by response surface analysis[J]. **Food Science**, 2011, 32(4):82-86. (in Chinese)
- [17] MU Yundong. Response surface methodology and its application in food industry [J]. **Journal of Zhengzhou Grain College**, 2001, 22(3):91-94. (in Chinese)
- [18] TENG Jingtong, ZHAN Xiaolong, GONG Kun, et al. Optimization of ultrasonic-microwave synergistic extraction of total flavonoids from leaves of Punica granatum L. by response surface methodology [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2015, 7(14):744-750. (in Chinese)