# 有效检测控制啤酒中的双乙酰

#### 何丽娜

债州茅台啤酒有限责任公司,贵州 遵义 563103)

摘要:双乙酰是衡量啤酒风味成熟与否的决定性指标,其含量超过其味阈值,会给啤酒带来不愉快的馊饭味,影响啤酒风味。两种检测方法比较,以方法二为好。选择的检测点有:(1)酵母对双乙酰的还原性能;(2)冷麦汁、压缩空气、接种酵母、发酵容器、管道等生产环节的微生物;(3)冷麦汁α-氨基氮;(4)冷麦汁pH值和发酵液pH值;(5)接种麦汁溶解氧;(6)酵母接种量;(7)发酵液补加酵母量;(8)清酒及成品双乙酰含量。(例悟)

关键词: 啤酒; 双乙酰; 检测

中图分类号: TS262.5; TS261.7 文献标识码:B 文章编号:1001-9286 Q003 )06-0083-02

# Control of Diacetyl Content in Beer through Effective Determination

HE Li-na

(Guizhou Maotai Beer Co. Ltd., Zunyi, Guizhou 563103, China)

**Abstract**: The content of diacetyl is the decisive index to measure whether the beer flavor got matured. Its content above the taste threshold value in beer would result in unpleasant sour beer taste. Two determination methods of diacetyl content were introduced in this paper and the second method was the best choice. The selected determination points included: 1. the deoxidization capability of yeast for diacetyl; 2. cooling wort, compressed air, inoculated yeast, fermentation containers, and microbes in pipes etc.; 3.  $\alpha$ -amino nitrogen in wort; 4. pH value of cooling wort and ferment mash; 5. the dissolved oxygen content in inoculated wort; 6. inoculation quantity of yeast; 7. yeast addition quantity in ferment mash; 8. the content of diacetyl in cleaning beer and the product beer. (Tran. by YUE Yang)

Key words: beer; diacetyl; determination

双乙酰是衡量啤酒风味成熟与否的决定性指标。啤酒中双乙酰含量超过其味阈值,会给啤酒带来不愉快的馊饭味,对啤酒风味影响较大。

由于双乙酰的味阈值较低 (对淡色啤酒来说应控制在 $0.1\,\mathrm{mg/L}$  L以下),因此在执行既定的成熟工艺时,一些看似微小的操作失误都可能造成双乙酰较大的波动以至超标。鉴于此,在生产实践中,控制双乙酰仅仅靠合理的工艺是不够的,还必须对生产的重要环节实施有效的检测、监控。双乙酰的前体物质 $\alpha$ -乙酰乳酸氧化后生成双乙酰,若其含量过高,往往会造成成品酒双乙酰反弹超标,影响产品质量,因此,为了保证出厂产品在整个保质期内双乙酰含量合格,在实际生产中仅仅针对纯双乙酰实施检测监控是不合理的,必须对双乙酰和 $\alpha$ -乙酰乳酸的总量实施检测、监控以确保产品质量。

- 1 有效检测控制双乙酰的实施要点
- 1.1 样品预处理
- 1.1.1 两种样品预处理方法的比较
- 1.1.1.1 方法一

样品直接按GB4928-2001中啤酒双乙酰的试验方法测定。 1.1.1.2 方法二

对样品进行预处理:低温 (<5 %)下用两烧杯以细流来回倾倒 5次(增加酒液氧含量),转移酒液到密闭容器中,于60 %水浴恒温 1h(使绝大部分 $\alpha$ -乙酰乳酸在高温下与氧反应生成双乙酰),再将

收稿日期 2003-06-10

酒液冷却 (注意:整个预处理过程不得损失样品中的双乙酰)。最后将经预处理的样品按GB4928-2001的方法测定双乙酰含量。

# 1.1.1.3 两种预处理方法的分析比较

方法一测出的双乙酰包含酒液本身的双乙酰和在实验操作过程中由酒液中的 $\alpha$ -乙酰乳酸转化而成的双乙酰两部分。其中,由 $\alpha$ -乙酰乳酸转化而成的双乙酰的量与酒液中 $\alpha$ -乙酰乳酸的含量、氧的含量、温度、转化时间等成正比,具有一定的不确定性。通常情况下  $\alpha$ -乙酰乳酸不能全部转化,即只有部分转化成双乙酰。故方法一测定的结果不能有效反映酒液中双乙酰和 $\alpha$ -乙酰乳酸的总量。

方法二通过样品预处理使酒液中绝大部分α-乙酰乳酸在蒸馏前就转化成了双乙酰。转化成的双乙酰与酒液本身的双乙酰一并被测出。故方法二能有效反映酒液中双乙酰和α-乙酰乳酸的总量。

在对比试验中,我们发现,用方法二测出的双乙酰含量通常比用方法一测得的结果高,实验数据见表1。

表 1	两利	两种双乙酰检测样品预处理方法对比					
试验 方案	双乙酰含量(mg/L)						
	1	2	3	4	5	6	
方法一	0.07	0.05	0.08	0.06	0.04	0.05	
方法二	0.13	0.08	0.14	0.10	0.08	0.11	

1.1.2 双乙酰检测方法的确定

No.6 2003 Tol.120

通过上述比较 ,可以看出 ,用方法一测定双乙酰含量合格的酒液 ,可能会因酒液中 $\alpha$ -乙酰乳酸氧化为双乙酰 ,导致双乙酰含量由合格变为不合格 ,这不利于产品质量控制 ;用方法二测定双乙酰合格的酒液 ,即使以后 $\alpha$ -乙酰乳酸氧化 ,酒液的双乙酰也不会超标 ,这对有效控制双乙酰是有利的。因此 ,在实际生产中必要时应选用方法二测定双乙酰。

#### 1.2 选择有效的检测点

由α-乙酰乳酸经非酶分解形成双乙酰的代谢途径如下:



双乙酰的前体物质 $\alpha$ -乙酰乳酸是酵母合成缬氨酸途径的中间产物,主要在主发酵酵母繁殖阶段形成。其中一部分 $\alpha$ -乙酰乳酸泄出酵母细胞体外,进行氧化脱羧反应生成双乙酰。而后双乙酰又被酵母吸收,在细胞内还原为乙偶姻,进一步还原为丁二酮,排出酵母细胞外。2 $\beta$ -丁二醇对啤酒风味影响较小。

高温、低pH值和氧的存在,有利于 $\alpha$ -乙酰乳酸氧化为双乙酰,根据分析,我们选择检测点如下:

## (1)酵母双乙酰还原性能的检测

酵母菌种是影响啤酒双乙酰的重要因素。不同的酵母菌株具有不同的 $\alpha$ -乙酰羧基丁酸合成酶活力,其双乙酰峰值和还原能力差异也很大。在与生产实际工艺相一致的实验条件下对酵母菌种进行发酵小试、中试,测出实验制得成品鲜啤酒的双乙酰含量,一般应小于 $0.06~{\rm mg/L}$ ,若达不到此要求的酵母菌种不能使用,应更换菌种或进行菌种选育。此项检测一般在引进新菌种或对原菌种实施分离纯化时开展。

②)冷麦汁、压缩空气、接种酵母、发酵容器、管道等生产环节的微生物检测。

酵母被杂菌 (球菌和乳酸菌)污染后,易产生多量双乙酰,因此应搞好工艺及环境卫生,防止污染。若微生物检查超标,应及时查找原因,解决处理。

#### (3)冷麦汁α-氨基氮的检测

α-氨基氮含量高,能较好满足酵母营养要求,缬氨酸不易缺乏,通过反馈作用,抑制酵母从丙酮酸合成缬氨酸的支路代谢作

用,从而减少其中间产物 $\alpha$ -乙酰乳酸的形成,少生成双乙酰。一般 麦汁 $\alpha$ -氨基氮应在180 mg/L以上。若低于此值,则应从原料、糖化工艺、实际操作等方面查找原因。

#### (4)冷麦汁pH值及发酵液pH值的检测

在低pH值下 ,双乙酰及其前驱物质的浓度均有所降低 ,其原因一方面是 $\alpha$ -乙酸乳酸的生成量减少 ,另一方面从 $\alpha$ -乙酸乳酸转变为双乙酰的速度加快了。冷麦汁pH值应控制在5.2~5.6 ,发酵液的pH值在主酵终了时应降至4.2~4.4。影响酒液pH的因素除麦汁pH值外 ,还有溶解氧、酵母种类、活性、酵母添加量、发酵温度及发酵容器管道的洗涤残留液情况、微生物状况等。

# 6)接种麦汁溶解氧的检测

麦汁溶解氧含量高,酵母繁殖快,虽然加速了 $\alpha$ -乙酰乳酸的合成,但同时更加速了 $\alpha$ -乙酰乳酸的非酶分解,总的看来,对降低双乙酰含量是有利的。麦汁溶解氧应在 $1.0\times10^{-5}\sim1.2\times10^{-5}$ 。达不到则应加强麦汁冲氧。

## (6)酵母接种量的检测

双乙酰的前体物质大都是在酵母繁殖过程中产生的,加大酵母接种量 ,降低酵母的增殖率 ,可以减少 $\alpha$ –乙酰乳酸的形成 ,从而降低啤酒双乙酰含量。接种酵母量应在 $1.5\times10^7$ ~ $1.8\times10^7$ 个/ml ,若接种量不够 ,应及时补加酵母。

#### 7)发酵液双乙酰的检测

发酵液从还原双乙酰的第三天起 检测双乙酰 ,直至低于0.08 mg/L。

通过延长时间,双乙酰仍不能下降至0.08~mg/L的发酵液,可添加适量的 $\alpha$ -乙酰乳酸脱羧酶。添加后需检测双乙酰下降情况,一般情况下可达到理想效果,否则应从添加量、作用时间、试剂质量等方面找原因。

# ⑧清酒及成品酒双乙酰的测定

清酒及成品酒双乙酰应低于0.08 mg/L才能灌装、出厂。只要做好前面的工作,双乙酰均应合格,否则应全面检查检测过程和滤酒过程是否出错。

#### 2 总结

由于啤酒双乙酰味阈值低,为控制好啤酒双乙酰,除了制订合理的工艺,在生产实际中还需加强监控,注意双乙酰检测细节和检测点,只要做好这些工作,就一定能保证成品啤酒双乙酰合格。

# 参考文献:

[1] 管敦仪.啤酒工业手册 (修订版) [M].北京:中国轻工业出版社,1996.

#### (上接第85页)

染检测器 ,通以低流量的载气 (为正常流量的1/4),柱温略高于正常使用温度 ,但要低于柱子的最高使用温度。老化时间约24 h,若采用程序升温8 h即可。

#### 3 PEG柱的使用

- 3.1 色谱仪:鲁南化工仪器厂生产的502型气相色谱仪,氢火焰检测器。
- 3.2 流动相: N<sub>2</sub> 30 ml/min H<sub>2</sub> 30 ml/min ,Air 300 ml/min。
- 3.3 色谱柱:内径3 mm,长2 m不锈钢柱。
- 3.4 温度 :柱温110 ℃ ,汽化室温度140 ℃ ,检测器温度140 ℃。
- 3.5 灵敏度:10 ,衰减1/16。

- 3.6 纸速 5 mm/min。
- 3.7 进样量 2 μl。
- 3.8 计算方法:外标法,己酸乙酯和乳酸乙酯的保留时间分别为2.31 min和4.26 min。
- 3.9 操作要点:经过多次实验,装得好的柱子,己酸乙酯出峰前,必分出两个小峰,检测出的己酸乙酯数据才较准确,否则测定的值比真实的值偏大。

#### 参考文献:

- [1] 沈尧绅.白酒气相色谱分析[M].北京 :轻工业出版社.1986.
- [2] 贡献,陈周平.气相色谱法与白酒分析[M].成都:四川科学技术出版社,1989.