

一种检测啤酒老化的新参数

陶 飞(译)

(江南大学生物工程学院生物资源实验室,江苏 无锡 214036)

摘要: 通过HPLC,研究了在啤酒贮存过程中,酒花苦味物质的变化。观察到异葎草酮浓度在此过程中变化显著不同。反式异葎草酮的浓度在啤酒贮存过程中逐渐减少,而顺式异葎草酮的浓度没有变化。根据色谱峰面积的大小,得到反式-顺式异葎草酮的比例,该比例对于新鲜啤酒,虽然啤酒的种类不同,但总是相差不大。但对于陈酒来说,它是逐渐减少的,其减少的程度与啤酒的种类有关。同时证实了反式-顺式异葎草酮的比例与啤酒陈腐味强度有相关性,反式-顺式异葎草酮的比例反映了啤酒变质过程中的氧化程度。

关键词: 风味稳定性; 异葎草酮; 啤酒

中图分类号: TS261.7; TS262.5; TS261.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2003)06-0086-03

A New Parameter for Determination of the Extent of Staling in Beer

Tran. by TAO Fei

(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi, Jiangsu 214036, China)

Abstract: The change in hop bitter substances in beer during storage was studied using HPLC. A significant difference was observed in the rates of reduction in isohumulone levels during beer storage. The trans form of *n*-isohumulone decreased with beer storage time, while the cis form remained unchanged. The trans-cis ratio, based on peak areas, was similar for fresh beers regardless of the beer specification, but it decreased in aged beer, to extents differing between beers. A good correlation between the trans-cis ratio and the stale flavor intensity of the beer was also confirmed, such that the trans-cis ratio reflected the degree of oxidative deterioration of the beer.

Key words: flavor stability; isohumulone; beer

在啤酒生产中,风味老化变质是一个严重的问题。为了改善啤酒风味的稳定性,很多研究者已通过风味感官评定来评价啤酒的陈腐味强度。但是,这一方法很难得到一致的评定结果。而且,培训和保持评定人员需要很多时间和精力。因此,非常有必要找到一种不需要有经验的风味评定人员也能很容易地评估啤酒陈腐味的方法。

在贮存过程中,一般认为,啤酒的变质是形成了阈值较低的长链不饱和羰基化合物。通过色谱的气质联用,我们研究了这种陈腐味物质,并且把它与感官风味评定作了对比。气质联用的分析结果表明,陈腐味强弱与一系列的羰基化合物的浓度之间有相关性。但是,这种分析需要昂贵的分析设备和很长的分析时间,而且在新鲜啤酒中,初始羰基化合物的浓度变化很大。因此这种分析方法很难在日常啤酒生产中应用。

以前的研究很少注意到非挥发性的氧化变质及其对啤酒口味的影响。众所周知,在啤酒贮存过程中,苦味物质和苦的风味是逐渐减少的。在较高温度下保存的啤酒,苦味物质减少了,而且苦的风味也明显变质了。同时,据报道,异葎草酮氧化后形成了丙烷、2-甲基丙醇、3-4-甲基丁烷,而这些物质与陈腐味有关。由于上述这些物质的阈值很低($\mu\text{g/L}$ 级),所以需要一种高灵敏的方法,用来检测异葎草酮的氧化降解产物。

以前的研究提出并评价了一种使用HPLC准确定量测定异- α -酸的方法。在这里,我们想要根据苦味物质浓度来确定一个新

的陈腐味指数。1998年,我们报道了在啤酒贮存过程中,反式和顺式异葎草酮反映了苦味物质的变化情况。在本文中,通过HPLC,研究了在不同啤酒样品中,异葎草酮降解减少的情况。结果表明,异葎草酮的减少和陈腐味的形成之间有着很明确的相关性,所以这种分析方法可以用来反映贮存啤酒氧化变质的情况。

1 实验方法

1.1 药品与试剂

HPLC级甲醇(Wako化学试剂公司),盐酸3N,磷酸缓冲液(85%),三乙胺,氢氧化四乙铵(10%水溶液)分析纯,去离子水(由Simpli实验系统制造)。

1.2 实验仪器

HPLC设备配有3台泵、1台自动进样器、柱式热固炉、光谱检测器、系统控制器和积分仪(Shimadzu公司),为了样品的富集,系统还配有流向改变阀,它可以在柱之间进行切换。分析柱为CLC-ODS(内径0.46 cm,长25 cm),保护柱为GRD-ODS(内径0.46 cm,长2.5 cm),用于样品纯化和富集的柱为SPC-PRI(内径0.4 cm,长3 cm),色谱仪的操作条件按ASBC的方法。

1.3 陈腐风味的评价

由12个有经验的评价师组成一个小组,评价啤酒陈腐风味的特征,小组成员给陈腐味打分在0~5分之间,0代表新鲜没有被氧化的啤酒,5代表陈腐味很强、极度氧化的啤酒。小组成员打分的平均值代表陈腐风味的强度。

收稿日期: 2003-06-09

译者简介: 陶飞(1977-),男,江苏人,硕士。

1.4 总活性抗氧化能力的测量

用来测量的试剂为50 mM pH4.3的醋酸缓冲液,其中含有75 μm甲基苯并三唑-6-磺酸和2 mM盐酸化-2-脒基丙烷,反应混合物在45℃下保温培养60 min,然后再恢复到室温。在一比色杯中,加入20 μl已溶解在50 mM 醋酸缓冲液中的样品,再加2.5 ml反应混合物;在另一比色杯中,加入20 μl 50 mM 醋酸缓冲液代替样品加入比色杯中作为空白。添加试剂所引起的吸光度的减小,在25℃,15 min后 734 nm下测定。所使用的分光光度仪为U-3200(日立,东京)。

2 结果与讨论

2.1 贮存过程中,苦味物质减少

苦味物质根据ASBC的方法测定。啤酒在20℃贮藏90 d,啤酒发生老化。对陈酒和新鲜啤酒的色谱图进行了比较,发现有4个峰的面积减小了。如图1所示,在啤酒中检测到了4种物质,标为B1~B4,B1和B4的保留时间与异-辅萹草酮和异-加萹草酮的相对应,B2和B3的保留时间与顺-n-异萹草酮和反-n-异萹草酮的相对应。

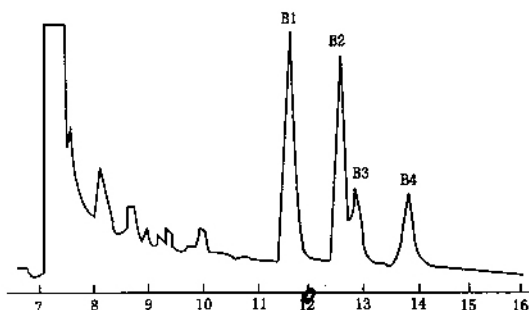


图1 HPLC检测啤酒中的苦味物质

在保藏过程中,相对于异-辅萹草酮和异-加萹草酮,反-n-异萹草酮的浓度减少得更多。相反,顺-n-异萹草酮的浓度在陈酒与新鲜啤酒中相差不大,这一结果如图2所示。在贮藏过程中,反-n-异萹草酮的变化情况,表明其数量可以用来评价啤酒样品的老化程度。但是这一技术的主要缺点是:对于每批新鲜啤酒,反-n-异萹草酮的数量是不同的,所以要在每批新鲜啤酒中,检测其数量,并且要在贮藏中检测并计算它的减少量。

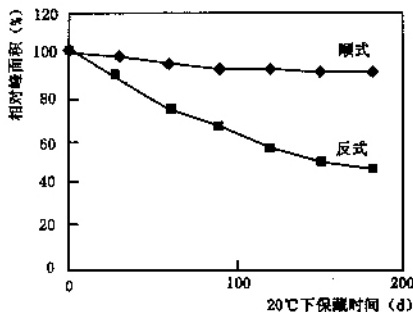


图2 顺式、反式-异萹草酮相对峰面积的变化

因此,在新鲜和老化的啤酒中,检测了反-n-异萹草酮和顺-n-异萹草酮的比例(反-顺比)结果见图3。在更高温度和更长时间的保藏条件下,反-顺比降低得更多。需要指出的是,尽管每次使用的酒花和啤酒的品种不同,但在新鲜啤酒中的反-顺比几乎是个常数。对29个新鲜和陈酒的反-顺比进行测定,其变异系数是2.2%,表明该方法的准确性很好。

以上结果表明,反-顺比反映着啤酒的氧化程度,在贮藏中这

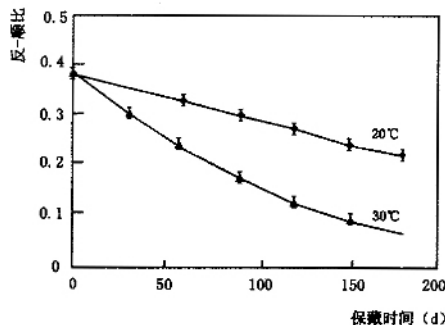


图3 不同的温度下保藏的啤酒,反-顺比的变化

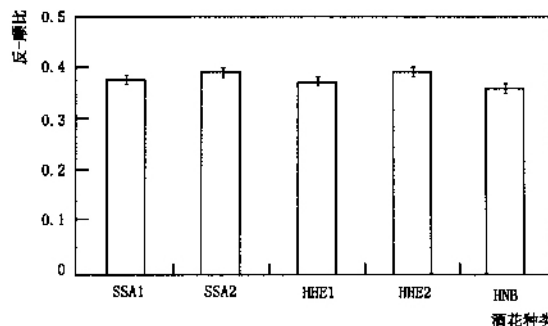


图4 不同种类的酒花生产的啤酒,反-顺比的变化

一比例的减少与啤酒生产中反-n-异萹草酮的不稳定性有关。可能是由于异戊烯和异二烯侧链与五味子酸在同一侧,导致反-n-异萹草酮更易氧化。

2.2 反-顺比与陈腐味的相关性

图3为在两个低温环境下反-顺比随时间的变化情况。为了证实反-顺比和啤酒氧化的关系,从同一批发酵中取出的啤酒样品,在不同的贮藏环境和温度下保藏。陈腐味强度由风味评价师打分,结果如图5所示。由图5可见,反-顺比在0.06~0.4之间变化,并且非常明显和陈腐味的强弱相对应。如果这种分析方法用于评价陈酒,并不需要新鲜啤酒的标准样品。

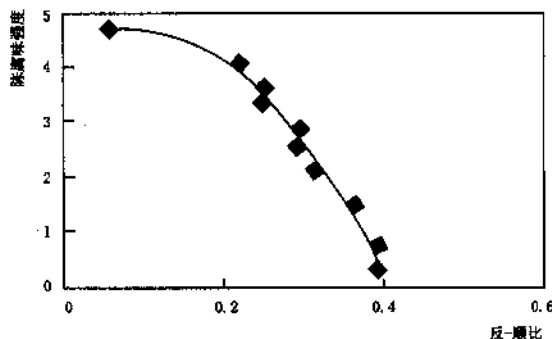


图5 反-顺比和陈腐味强度的关系

进而分析了在20℃和30℃下保藏30 d的6种不同品种的啤酒。啤酒A~D是X品牌的,啤酒E~F是Y品牌的。如图6所示,新鲜啤酒的反-顺比几乎保持不变,但是陈酒的反-顺比在0.14~0.33之间变化。图7表明,陈酒的反-顺比与其陈腐味强弱程度有着明显的相关性。Y品牌的啤酒比X品牌的啤酒有更好的风味稳定性。这种差异可能是由于两者的抗氧化能力不同,而不是由于两者陈腐味前体浓度的不同。

2.3 影响异萹草酮氧化的因素

Grigsby的研究表明,不同pH对啤酒的氧化有影响。当啤酒的pH减小时,氧化反应就增强。但是关于风味老化的速率与pH之间

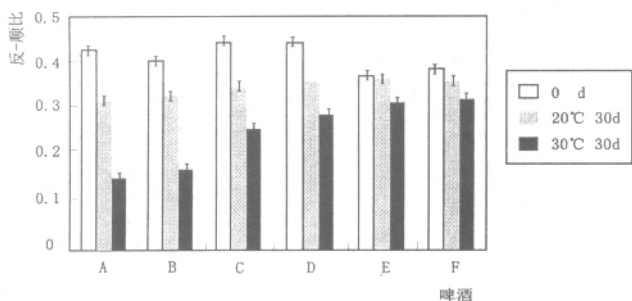


图6 各种啤酒反-顺比的比较

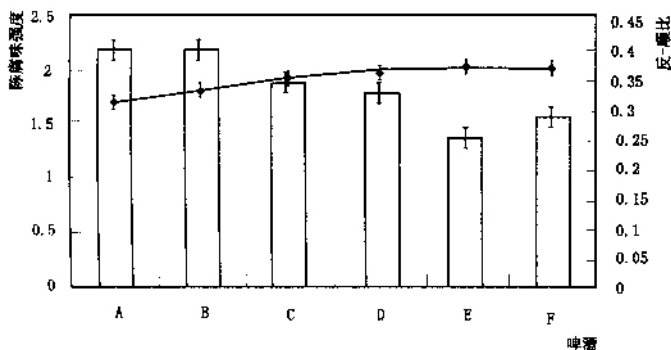


图7 各种啤酒反-顺比的比较

详细的机理还没有阐述清楚。我们研究了pH对异萜草酮氧化的影响。样品用HCl调到更低的pH,同时用等量的蒸馏水加到样品中作为对照。图8是加酸后的啤酒在30℃下保藏45d,反-顺比的变化情况。由图8可见,啤酒的pH只是稍微降低了0.2,其反-顺比相对于对照组减小了。这表明啤酒低pH不利于异萜草酮的稳定,会导致较差的风味稳定性。这一结果与前面感官评定结果是一致的。

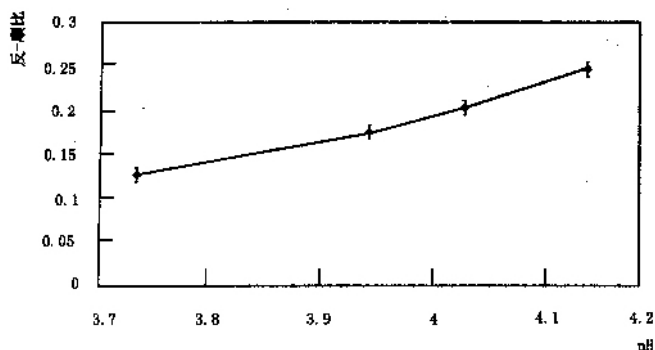


图8 pH对反-顺比的影响

2.4 评价啤酒的风味稳定性

以前的研究表明,在制麦中保持一定的厌氧状态,可以提高啤酒的风味稳定性。在啤酒厂,在通空气(实验组)和通CO₂(对照组)两种不同的制麦条件下生产啤酒,评价制麦中氧的吸收对风味的影响。实验结果表明,实验组有更高的抗氧化酶活性(图9)。这证实了实验组能更有效地抑制麦汁的氧化。同时通过感官评定,评价了麦汁的氧化对风味稳定性的影响。发现实验组于20℃保藏90d后有更高的抗氧化酶活性和更低的陈腐味强度(图10)。

图11表明,在贮藏前,对照组的反-顺比要比实验组低;在贮藏中,对照组的反-顺比降低得比实验组多。这种减少证实了啤酒中物质的氧化腐败和陈腐味的形成。即使在风味评定困难的情况下,都能通过测定反-顺比的减少,来准确地评价啤酒的风味稳定

性。我们发现在贮藏啤酒的过程中,反-顺比的减少受制麦条件的影响。

实验表明,在啤酒贮藏过程中,即使苦味物质有稍微的氧化,使用这种HPLC评价方法可以很好地测量其变化。因为反-顺比与风味强弱程度有很好的相关性。我们认为,反-顺比可以反映啤酒老化中风味的变化,该方法可以快速、有效地预测啤酒风味的稳定性,而且不需要有经验的风味评价师和提取啤酒中的有关物质。

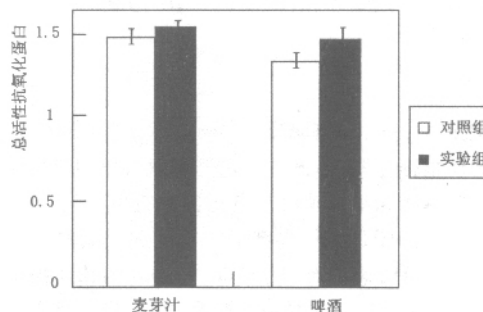


图9 两种制麦条件下,啤酒总活性抗氧化蛋白的比较

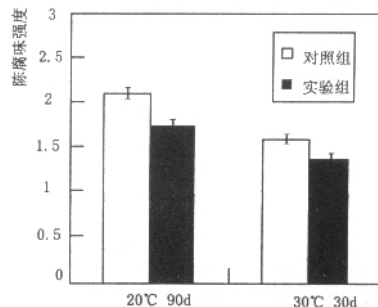


图10 两种制麦条件下陈酒陈腐味变化

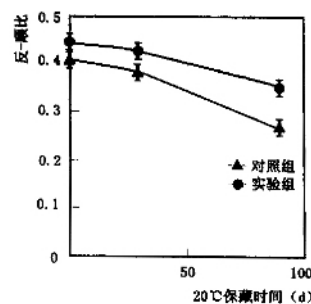


图11 两种制麦条件下陈酒的反-顺比的比较

3 结论

在啤酒贮藏过程中,反-n-异萜草酮随时间逐渐减少,而顺-n-异萜草酮保持不变。反-顺比与啤酒的风味稳定性有着很好的相关性,该比例能用来表明啤酒的氧化腐败程度。反-顺比可以成为评价啤酒老化程度的一个量化指标。而且这一方法不需要新鲜的啤酒和前处理过程(如提取等)。啤酒的pH和制麦中的氧化,影响着贮藏酒中的反-顺比。这一结果表明,在发酵过程中采取合适的工艺,在制麦中防止氧化,对于提高啤酒的风味稳定性有着重要的意义。

译自Journal of the ASBC. 2002, 60(1):26-30.