

## 纯生啤酒质量影响因素初探

刘伟成<sup>1,3</sup> 贾士儒<sup>1</sup> 冯景章<sup>2</sup> 张五九<sup>3</sup>

(天津科技大学食品科学与生物工程学院, 天津 300222)

(北京燕京啤酒集团公司, 北京 101300) (中国食品发酵工业研究院, 北京 100027)

**摘 要** 针对纯生啤酒的质量稳定性进行了相关的研究。研究发现, 纯生啤酒的货架保鲜期比相应熟啤酒延长了 10% ~ 20% 左右。纯生啤酒经常会遇到泡持性下降的问题, 运用特殊合成的底物从泡持性较差的啤酒中检测出很高的蛋白酶 A 活性。啤酒灌装后的蔗糖转化酶活性在保存 3 个月后经检测能保存 80% 以上的酶活, 5 个月后检测仍能保存 60% 以上的酶活。外加葡萄糖氧化酶会造成啤酒中葡萄糖含量的异常增加, 采用液相色谱分析法对加入葡萄糖氧化酶啤酒的蔗糖转化酶活性进行了分析。温瓶温度升高对蛋白酶 A 和蔗糖转化酶活性能产生相似的作用, 蔗糖转化酶活性对温度升高的抵抗能力稍高于蛋白酶 A, 在蛋白酶 A 失活的临界点, 蔗糖转化酶仍能保持约 30% 的活力。

**关键词** 纯生啤酒 风味稳定性 泡持性 蛋白酶 A 活性 蔗糖转化酶活性

纯生啤酒为膜过滤除菌产品, 由于未经巴氏杀菌, 因而口感更为清爽, 并得到越来越多国内外消费者的喜爱<sup>[1]</sup>。近几年来, 在我国啤酒行业的不懈努力下, 国内纯生啤酒的生产从无到有, 到现在已初具规模。然而, 在纯生啤酒发展的过程中, 一些有关纯生啤酒的质量问题一直困扰着啤酒酿造者, 例如, 许多啤酒厂生产的纯生啤酒保鲜期究竟比熟啤酒提高了多少, 纯生啤酒存在着泡沫衰减问题, 以及在添加葡萄糖氧化酶抗氧剂后啤酒中的葡萄糖含量异常增加, 从而影响到蔗糖转化酶活性的判断等问题。本研究针对这些问题进行了深入的探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪 器

岛津高效液相色谱仪, 其中包括 LC-10Atvp 泵 1 台、RID 检测器 1 台、CTO-10Avp 柱箱 1 台、SCL-10Avp 系统控制器 1 台。

泡沫测定仪( Huffman ) 恒温水浴( 控温精度  $\pm 0.5^\circ\text{C}$  ) 分光光度计( 岛津 2040 型 ) 10000 r/min 高速离心机( ependof ) 荧光分光

光度计( 岛津 RF-5000 )

### 1.2 试 剂

葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、麦芽三糖、麦芽四糖均为进口色谱纯( Sigma )。荧光肽底物( MOCAc-Ala-Pro-Ala-Lys-Phe-Phe-Arg-Leu( Dnp )-NH<sub>2</sub> )( 自制 ) DMSO( 国产 )。含 0.33% TBA 的质量分数 50% 乙酸溶液。葡萄糖鉴别试纸( 纯生啤酒专用 )。

### 1.3 操作方法

#### 1.3.1 纯生啤酒蔗糖转化酶活性判定

分别吸取酒样 10 mL 于 3 支试管中。第 1 支试管( A )中加水 2.0 mL, 摇匀。将第 2 支试管( B )放入沸水浴中加热 2 min, 取出冷却。于第 2 和第 3 支试管( C )中各加 250 g/L 蔗糖溶液 2.0 mL, 摇匀, 然后将 3 支试管同时置于  $(30 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  水浴中保温 30 min。随后将 3 支试管再同时置于沸水中加热 2 min, 取出, 冷却至室温。分别用葡萄糖鉴别试纸的一端浸入各试管中 30 ~ 60 s, 取出, 立即观察其颜色变化, 记录结果。若 C 管试纸变色且颜色深于 A 管和 B 管( 呈阳性 ), 判为生啤酒或鲜啤酒。若不变色或者与 A 管和 B 管颜色无差

别,则判为熟啤酒。

### 1.3.2 色谱条件

液相色谱测糖采用 RID 检测器,岛津氨基柱(5  $\mu\text{m}$  250 mm  $\times$  4.6 mm i. d.),质量分数 70% 乙腈水溶液作为流动相,流量为 1 mL/min。

### 1.3.3 啤酒保鲜期预测(RSV 值测定)<sup>[1]</sup>

#### 1.3.3.1 TBA 值测定

(1)取 10 mL 啤酒在 10 000 r/min 高速下离心到澄清。

(2)取上清液 5 mL 与 2 mL 试剂混合均匀,在 60℃ 水浴中精确加热 60 min,然后迅速冷却,于 530 nm 下比色。

(3)取 5 mL 啤酒加 2 mL 蒸馏水,以同样方式处理后作为比色的空白。

#### 1.3.3.2 RSV 值测定

(1)取 5 瓶同一批次的瓶装啤酒,其中 4 瓶放入 60℃ 水浴中加速陈化,分别停留 12、24、36、48 h,1 瓶对照放入冰箱中保存,每到限定时间取出 1 瓶陈化的啤酒放入冰箱中保存。

(2)4 个样品全部陈化好后,与测定 TBA 的步骤相同(不需空白,对照即为空白),测得不同陈化时间样品的吸光度,即  $\Delta\text{TBA}$ 。

(3)测定结果为:风味保鲜值(resistant staling value RSV) =  $1/4(12/\Delta\text{TBA}_{12} + 24/\Delta\text{TBA}_{24} + 36/\Delta\text{TBA}_{36} + 48/\Delta\text{TBA}_{48})$

RSV 值越大,表示啤酒的保鲜时间可能越长。

#### 1.3.4 蛋白酶 A 水平检测<sup>[2,5]</sup>

按照 kondo 等人的方法加以改进。试样在 5 000 g 下离心 10 min,在试管中依次加入 40  $\mu\text{L}$  试样、500  $\mu\text{L}$  0.2 mol/L 的缓冲液、4  $\mu\text{L}$  底物、456  $\mu\text{L}$  的蒸馏水,混匀后在 30℃ 保温 0.5 h 稀释至 5 mL,在荧光分光光度计上进行测定。荧光分光光度计参数:激发波长 328 nm、发射波长 393 nm、光栅狭缝宽度 10 nm(激发 = 发射)、增益低、扫描速度 100 nm/min。

## 2 结果与讨论

### 2.1 纯生啤酒与熟啤酒保鲜期对照

表 1 纯生啤酒与熟啤酒保鲜期对照

品 种	纯生 A	熟啤 A	纯生 B	熟啤 B
TBA	0.23	0.29	0.31	0.38
RSV	187	162	171	145

按照国外研究者的经验<sup>[4,5]</sup>,啤酒老化后产生的羰基化合物与 TBA 络合,在 530 nm 下测定其吸光度,可据此比较啤酒的老化程度。从表 1 得到的数据看,纯生啤酒的 TBA 值比相应熟啤酒的 TBA 值降低了 10% ~ 20% 左右,保鲜期 RSV 值也有相应比例的提高。

### 2.2 纯生啤酒泡持性与蛋白酶 A 活力相关性研究

表 2 的检测结果不但说明了纯生啤酒经常会遇到的泡持性下降问题,而且揭示了蛋白酶 A 活力与啤酒泡持性之间的联系。由此可见,提高纯生啤酒的泡持性就必须解决好纯生啤酒酿造过程中存在的蛋白酶 A 问题。

表 2 市售纯生啤酒和熟啤酒泡持性

品 种	纯生 A	纯生 B	纯生 C	纯生 D	熟啤 A	熟啤 C	熟啤 D
泡持性/s	205	115	270	230	298	230	260
蛋白酶 A 活力( $\Delta OD$ )	469	637	19	75	0	17	6

### 2.3 温瓶过程中蛋白酶 A 和蔗糖转化酶活性的变化

从图 1 中可以比较直观地观察到在温瓶温度不断提高的情况下,纯生啤酒中蛋白酶 A 和蔗糖转化酶活性发生的变化,温瓶温度

升高时蛋白酶 A 和蔗糖转化酶活力都处于下降状态,蔗糖转化酶活性对温度升高的抵抗能力稍高于蛋白酶 A,在蛋白酶 A 失活的临界点,蔗糖转化酶仍能保持约 30% 的活力。因此,可以通过选择合适的温瓶方式部

分保留蔗糖转化酶的活力,同时将蛋白酶 A 的活力控制在较低的水平。

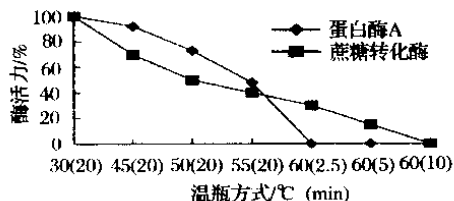


图 1 温瓶对蔗糖转化酶和蛋白酶 A 活性的影响

## 2.4 纯生啤酒储存过程中蔗糖转化酶活力的变化

纯生啤酒中蔗糖转化酶活力的存在是判定纯生啤酒真伪的依据,研究中选择了 5 种市售的合格纯生啤酒进行纯生啤酒贮存过程中蔗糖转化酶活力的变化的跟踪,在纯生啤酒的保质期内,5 种纯生啤酒蔗糖转化酶活性在保存 3 个月后检测能保存 80% 以上的酶活,6 个月后检测仍能保存 60% 以上的酶活,如图 2 所示。

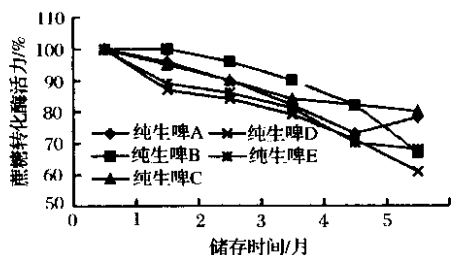


图 2 纯生啤酒储存期间蔗糖转化酶活力的变化

## 2.5 添加葡萄糖氧化酶对纯生啤酒中葡萄糖含量的影响

### 2.5.1 生啤酒中葡萄糖含量及其蔗糖转化酶活性测定

分别取 10 mL 清酒(过滤后的啤酒发酵液)于沸水浴中加热 1、2、3、4 和 5 min,冷却后按 1.3.1 纯生啤酒蔗糖转化酶活性判定方法进行检测,结果如表 3。

### 2.5.2 添加葡萄糖氧化酶后蔗糖转化酶灭活与煮沸时间的关系

表 3 沸水加热对蔗糖转化酶活性的影响

清 酒	沸水加热/min				
	1	2	3	4	5
结 果	+++	-	-	-	-

注: + 号为有活性, + 号越多, 活性越明显; - 号为没有活性。

将添加过葡萄糖氧化酶的纯生啤酒,分别取 10 mL 于沸水浴中加热 1、2、3、4 和 5 min,冷却后按 1.3.1 纯生啤酒蔗糖转化酶活性判定方法进行检测,结果如表 4。

表 4 沸水加热对蔗糖转化酶活性的影响

清 酒	沸水加热/min				
	1	2	3	4	5
结 果	+++	++	++	++	++

注:与表 3 相同。

综合表 3 和表 4 的结果分析,不难看出这样的结论,外加葡萄糖氧化酶会造成啤酒中葡萄糖含量的异常增加,这可能是因为酶制剂的纯度不够造成的。表 4 中清酒的 A、B、C 管采用液相色谱法分别测定其中的葡萄糖含量,A、B 管中的葡萄糖含量约为 0.46%,C 管的葡萄糖含量约为 1.52%,其 C 管与 A、B 管的葡萄糖含量之差为 1.06%,按尿糖试纸比色板判断应为显性(+++),也就是说,应用液相色谱法可以对添加过葡萄糖氧化酶的纯生啤酒中蔗糖转化酶活性进行较为精确的判定。

## 3 结 论

(1) 纯生啤酒的货架保鲜期比相应熟啤酒延长了 10% ~ 20% 左右。

(2) 纯生啤酒泡持性较差是由较高的蛋白酶 A 活性造成的。

(3) 纯生啤酒蔗糖转化酶酶活稳定性较高,5 个月内仍能保存 60% 以上的酶活。

(4) 在外加葡萄糖氧化酶造成啤酒中葡萄糖含量异常增加的情况下,采用液相色谱分析的方法能够对啤酒蔗糖转化酶的活性进行了较为精确的分析。

(5) 纯生啤酒蔗糖转化酶活性对温度升高的抵抗能力稍高于蛋白酶 A,在蛋白酶 A 失活的临界点,蔗糖转化酶仍能保持约 30%



的活力,可以采用改变温瓶温度的方法控制  
纯生啤酒的泡沫稳定性。

#### 参 考 文 献

1 管敦仪.啤酒工业手册.北京:中国轻工业出版社,1998.577~578

2 Hiroto Kondo, Yuji Shibano et al. J Biochem, 1998, 124:141~147

3 Fukal L. J Inst Brew, 1986, 92:357~359

4 Ommrod I H L et al. E. B. C. Congress, Lisbon, 1991. 457~464

5 Hiroto Kondo, Hideko Yomo, Susumu Furukubo et al. J Inst Brew, 1999, 105, 293~300

## Study on the Quality Stability of Draft Beer

Liu Weicheng<sup>1,3</sup> Jia Shiru<sup>1</sup> Feng Jingzhang<sup>2</sup> Zhang Wujiu<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> School of Food Science & Bioengineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin, 300222)

(<sup>2</sup> Beijing Yanjing Brewery Co. Ltd., Beijing, 101300)

(<sup>3</sup> China National Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing, 100027)

**ABSTRACT** In the paper, the quality stability of draft beer was studied. The results showed that the shelf life of draft beer is longer about 10%~20% than pasteurized beer; the foam stability of draft beer is often decreased, proteinase A in beer of poor foam stability was measured very high using specially synthesized substrate; the sucrase activity can keep 80% after three months and 60% after five months; adding glucose oxidase may make the concentration of glucose in beer increase abnormally and LC was used to measure the sucrase activity in glucose oxidase added beer; to increase the warming bottle temperature will affect the activity of sucrase and proteinase A similarly, sucrase's temperature resistance is higher than proteinase A's, and sucrase activity can keep 30% at the temperature when proteinase A lose its activity.

**Key words** draft beer, flavor stability, foam stability, proteinase A activity, sucrase activity

#### 新书推荐

### 《FDA 食品法规》

《FDA 食品法规》(美国联邦法规第 21 卷第 70~74、100~199 部分)的中文译本,已于 2003 年 6 月出版。FDA 食品法规是美国食品药品监督管理局的法律性文件,为国际著名的国家级管理法规。它对食品及食品配料、加工工艺、杀菌设备、成品质量、检验方法及进出口贸易各环节都有详细规定,世界上许多国家在实施食品及食品配料国际贸易和国内管理都先后借鉴美国 FDA 法规。这部法规的内容按年度修订发行,以保持内容的新颖性和权威性。为适应我国加入世贸组织后的经济形势,向国内食品及食品配料生产、贸易及管理的企业和政府部门提供参考资料,以促进我国食品早日与国际接轨,对于维持和提高我国食品卫生水平具有重要意义。

该书适用于食品和食品配料生产、科研、贸易、检验、出入境管理,以及教育、卫生、商业等方面技术人员和管理人员查阅及参考使用。

全书约 180 万字,16 开本。定价 220 元,另加包装挂号邮寄费 22 元,合计 242 元/本(可从本刊编辑部订购)。