

啤酒老化的预测——TBA 值测定方法的探讨

付兆辉 李 崎 顾国贤

(江南大学教育部工业生物技术重点实验室, 无锡 214036)

摘 要 对由 Grigsby 和 Palamand 提出并用于预测啤酒老化的 TBA(硫代巴比妥酸)值测定方法进行了进一步的探讨和改良,确定了 TBA 值的测定条件为:测定吸收波长为 530 nm;TBA 溶液为含质量分数为 0.28% TBA 的体积分数为 60% 的乙酸溶液;反应温度 60℃;反应时间 60 min;空白样中添加体积分数为 60% 的乙酸溶液。同时对 TBA 值与醛类物质及其他羰基化合物的相关性进行了初步研究。

关键词 TBA 值 啤酒风味稳定性 醛类 羰基化合物

啤酒的风味稳定性一直是啤酒生产厂家及研究者关注的重要问题。而这其中起着最重要作用的物质是羰基化合物^[3,10]。寻找能够快速而准确地测定羰基化合物(醛类物质)的含量的方法,是提高啤酒风味稳定性的基本前提。

TBA 值最初是由 Kohn 和 Liversedge^[5]提出,用于食品和生物材料中脂类氧化的检测和定量,后经 Grigsby 和 Palamand^[4]改进用于啤酒中羰基化合物的分析。其原理是利用乙酸化的硫代巴比妥酸与羰基类化合物反应形成生色团,测定其吸光值,数值越高说明啤酒的老化程度越严重。但是在前期的研究中人们对该反应的特异性存在一定的争议^[2,4,10],同时反应条件也略显不成熟。文中主要对 TBA 的测定方法进行探索,并对 TBA 值与醛类物质(羰基化合物)的相关性进行初步研究,以确定采用 TBA 值是否可以用于预测啤酒的老化。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

硫代巴比妥酸,冰醋酸(化学纯),反-2-壬烯醛糠醛(化学纯),双乙酰,乙酰丙酮,正己烷,乙酸乙酯,乙醛,糠醛,乙醇,甘氨酸。

1.2 主要仪器

unico UV-2100,上海合利仪器有限公司;SHZ-22 恒温水浴器,江苏省太仓市医疗器械

厂。

1.3 溶液配制

准确称取 0.33 g TBA,用 50% 的乙酸溶液溶解并定容于 100 mL;同样称取 0.28 g TBA,用 90% 的乙酸溶液溶解并定容于 100 mL;二者均需新鲜配置。

1.4 TBA 测定方法

见参考文献[8]和[9]。

2 结果与讨论

2.1 TBA 与底物反应的专一性

分别选取醇、醛、酮、酸、酯、碳水化合物、氨基酸等作为反应底物,考察其与 TBA 反应的专一性。从观察几种化合物的反应现象可知,TBA 与酮、醛等反应生成有色加成物,而与葡萄糖、木糖、乙醇、乙酸乙酯、正己烷、甘氨酸等作用基本无明显颜色,见表 1 和表 2。另外,这些化合物对吸光值有一定的贡献,糖类、酮类等相对更明显一些。Benzie^[1]也证实,TBA 可与酮、酸、酯、糖、吡啶、维生素等发生反应。因此,TBA 在实验中更准确的表达术语应该是 TBARS(可与 TBA 反应的物质),而不仅仅是羰基类化合物,虽然羰基类化合物是该反应的主要参与物质。笔者以为,这可能就是有些厂家在测定 TBA 值时出现问题的原因之一。TBA 试验测定的是所有氧化产物的共同效果,从而综合反应

样品氧化程度,不仅仅是反映风味活性物质的变化。但是,由于葡萄糖、木糖、双乙酰、乙酸乙酯、乙酰丙酮等这些物质在啤酒中的浓度比表

1中所测定的底物浓度要低得多,因此对显色结果的贡献也极小。

表 1 TBA 与各种底物反应的专一性

底物	葡萄糖	木糖	双乙酰	己烷	乙醇	乙酸乙酯	乙酰丙酮	甘氨酸
底物浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	52.5	100	128	66	79	90	97	100
吸光度值(A_{530})	0.011	0.027	0.019	0.008	0.008	0.009	0.010	0.009
显色	微色	微色	橙黄	无色	无色	无色	橙黄	无色

表 2 TBA 与醛类等反应的专一性

底物	乙醛	糠醛	反-2-壬烯醛	酒样
底物浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	155	116	42.3	-
吸光度值(A_{530})	0.025	0.207	0.210	0.390
显色	淡黄	黄绿	橙色	黄红

测定时作者经常发现,在测定同一品牌酒样时准确性高,而测定不同品牌酒样时,其可比性相对差一些;另外,自然存储状态下的酒的测定值要比强制老化实验时酒的测定值更能反应出老化的真实情况,这是因为高温下还会伴有其他反应的发生,影响测定的准确性;另一方面,研究 TBA 值的变化率要比单纯比较 TBA 值更能反应出不同酒样之间的老化情况。

通过实验发现,羰基类化合物与 TBA 反应形成有色加成物,而其他化合物虽对吸光值有一定影响,但其反应产物基本是无色的,也就是说从显色反应上看,TBA 实验对羰基类化合物还是有有一定专一性的。存在不足的是,不同的醛类其反应加成物的颜色不同,在波长 530 nm 下产生的吸光值也不相同,这可能是造成有时实验数值与品评结果不一致的重要原因之一。

2.2 醛类反应物的吸收波长

按同样操作方法^[8],考察了 TBA 与几种单醛及酒样的反应物的吸收波长,对其反应液进行波长扫描发现(图 1 所示),其反应物基本都有 2 个吸收峰,波长分别在 450 nm 和 530 nm 附近。Kosugi 等^[2]认为,醛类与 TBA 反应可生成黄色物质、橙色物质及红色物质,其最大吸收波长分别为 455、495 和 532 nm;另外 Guillen-Sans 和 Guzman-Chozas^[5]进一步考察认为,直链醛类、2-烯醛类及 2,4-二烯醛与 TBA 反应可生成黄色、橙色和粉红色物质。

对于吸收波长的选择,作者认为,其 TBA 反应的原理相同,2 种波长主要是针对不同的反应加成物而言的,一种是对黄色加成物有最大吸收,一种是对红色加成物有最大吸收。因此在分析 TBA 数据时,最好还要参考一些其他的相关指标,这样得出的结论更可靠。

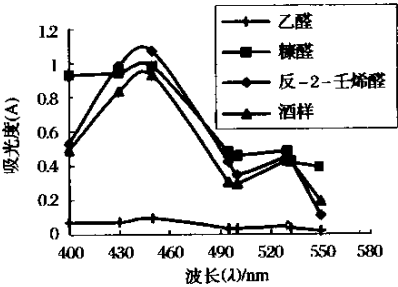


图 1 几种醛的吸收波长

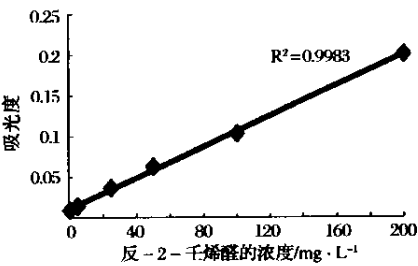


图 2 反-2-壬烯醛与吸光度值关系

2.3 单一醛与 TBA 吸光值的相关性

羰基类化合物,尤其是醛类物质经过 TBA 反应后产生的吸光值较大。因此本试验分别以糠醛、反-2-壬烯醛、乙醛为例,取不同浓度的醛溶液反应,测定吸光值,做相关性分析。由图 2、图 3、图 4 可知,糠醛、反-2-壬烯醛溶液与 TBA 吸光度值线性关系良好, R^2 值为 0.9983 和 0.9906。而乙醛溶液与 TBA 吸光度值线性关系较差,且在低浓度时,吸光度值基本不变;

另外由表 2 和图 4 可知,乙醛对吸光值的贡献也相对较小。这都说明该方法对不饱和醛类更具专一性。

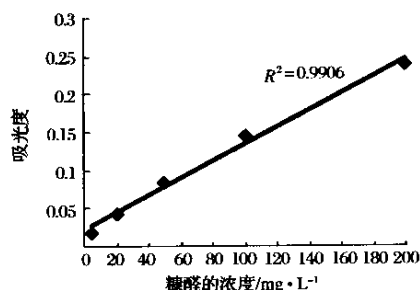


图 3 糠醛浓度与吸光度值的关系

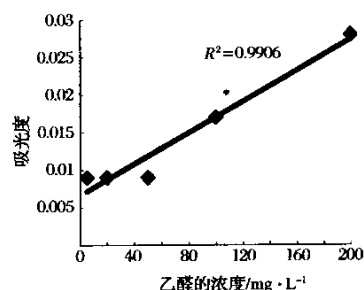


图 4 乙醛浓度与吸光度值的关系

2.4 TBA 反应条件对吸光度的影响

根据文献报道^[4,8,10],TBA 反应条件并不一致,作者针对这些问题作进一步探讨。

2.4.1 TBA 浓度的影响

配制不同浓度的 TBA 溶液进行试验,其他操作相同,结果如图 5。由图 5 可以看出,TBA 质量分数在 0.2%~0.3% 之间有最大吸光值,随后吸光值有所下降,但降幅不是很大。这可能是由于在链醛与 TBA 比例相当时,醛类先生成相应烯醛,再与 TBA 作用形成无色吡喃嘧啶加成物,该加成物在酸性条件下转为红色化合物,而当 TBA 过剩时,反应中间产物与剩余



图 5 TBA 浓度对吸光度的影响

TBA 再次发生反应,造成吸光值有所下降。因此选择 0.28% TBA 作为最佳浓度。

2.4.2 乙酸浓度的影响

TBA 含量相同,取不同浓度乙酸溶液溶解后,按相同操作进行试验。由图 6 可知,吸光值随着酸度的增加而逐步增大,但增值不大;且乙酸体积分数达 90% 之后,吸光值还略有下降。可见乙酸浓度达到一定量时,其对吸光值的影响不是很大,尤其在乙酸体积分数达 50% 之后,吸光值增加有限。考虑到经济原则,乙酸浓度定为 60%。

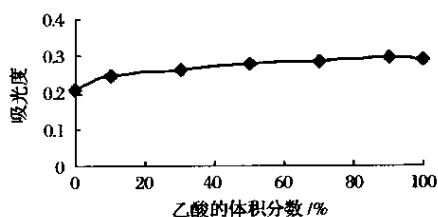


图 6 酸度的影响

2.4.3 反应温度和反应时间的确定

作者考察了不同水浴温度对 TBA 反应的影响。从图 7 中可看出,温度对 TBA 值的影响非常明显。60℃ 时经 60 min 保温,吸光值达到最大。而在 70℃ 时经 40 min 吸光值就达到最大,相比较而言,30℃ 时反应要缓和得多。考虑到高温会伴随其他反应的发生,结合本试验结果,水浴温度定为 60℃,反应时间定为 60 min。

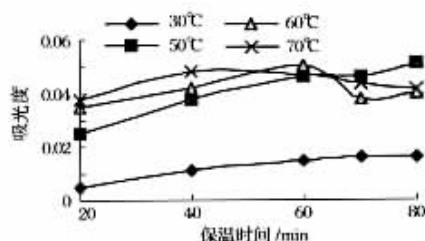


图 7 温度对吸光率的影响

另外,作者还对空白样做了调整。原空白样是通过添加去离子水代替 TBA 溶液,经试验改为添加相同浓度乙酸溶液,其吸光值较原空白样增加了 0.009。为保证实验的准确性,笔者以为空白样最好改为添加相同浓度的乙酸溶液。

2.5 醛类加成物的热敏性对比

TBA 反应加成物有 2 个吸收峰,而且可以看出,在 450 nm 时吸光值要远大于在 530 nm 处的吸光值。而前者被认为是所生成的黄色物质的最大吸收波长,后者是生成红色物质的最大吸收波长。酒样 60℃ 保温 5 min 时就产生黄色物质,而红色物质要到 30 min 后才能形成,说明黄色物质的形成速度远快于红色物质的形成。

图 8 和图 9 分别是在 30℃ 和 60℃ 水浴中实验的结果。从中可以看出,低温时

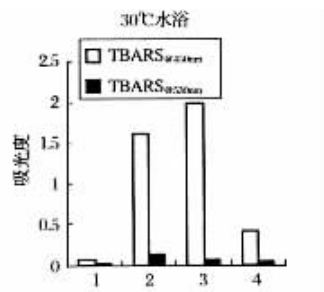


图 8 TBARS_{@450 nm} 在 30℃ 水浴中的吸光值

1-乙醇 2-糠醛 3-反-2-壬烯醛 4-酒样

(注:图 9、图 10、图 11 与此相同)

TBARS_{@450 nm} 值已经很高,而 TBARS_{@530 nm} 值却很低,这说明黄色加成物形成的量较多,而红色加成物量还较少。而且图 9 显示,高温时糠醛黄色加成物的量有所减少,红色加成物则大量形成。对比图 10 和图 11 发现,高温时 TBARS_{@530 nm} 值均高于 TBARS_{@450 nm} 值,即高温时红色加成物的量要大于低温时产生的量,而黄色加成物的量在高低温度下变化不一,这说明黄色加成物热敏性较红色加成物差。

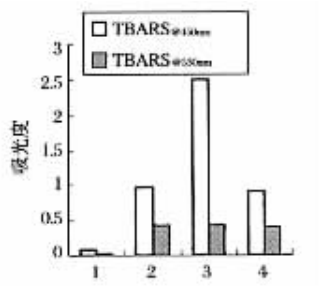


图 9 TBARS 在 60℃ 水浴中的吸光值

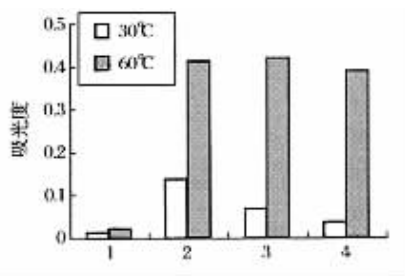


图 10 TBARS 在 530 nm 处吸光值

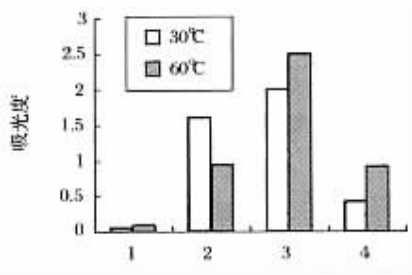


图 11 TBARS 在 450 nm 处吸光值

3 结 论

(1) TBA 实验并不能特异性地检测啤酒中的风味活性物质,从实验结果上看,其他物质对吸光值有一定的影响,但与醛类物质相比很小,这就说明其他物质对该检测法的干扰不大。作为一个实验指标,TBA 值在一定程度上可以反映样品氧化情况。

(2) 羰基化合物与 TBA 反应生成有色加成物,尤其是醛类物质,并且不饱和醛的专一性要高于饱和醛的专一性。

(3) 改良后 TBA 的测定条件:吸收波长为 530 nm,TBA 溶液为含 0.28% TBA 的 60% 乙酸溶液,60℃ 下水浴反应 60 min;60% 乙酸溶液为空白。

(4) 实验中发现,TBA 与乙醛等形成黄色加成物,与反-2-壬烯醛反应形成橙黄色加成物。并且黄色加成物的生成速度快,但其热敏性较红色加成物差。

综上所述,TBA 实验具有简捷、快速、使用实验仪器少,可以同时处理多个样品等优点。在考虑到其他干扰因素的前提下,其仍具有很高的实用价值,对生产有参考意义。

参 考 文 献

- 1 Benzie L E E. Lipid peroxidation : a review of causes , consequences, measurement and dietary influences[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition , 1996(47) 233 ~ 261
- 2 Kosugi H , Kikugawa K. Reaction of thiobarbituric acid with saturated aldehydes[J]. Lipids , 1986(21) : 537 ~ 542
- 3 Hudson J R. The physical stability of beer[C]. Eur Brew Con , 1981. 421 ~ 431
- 4 Grigsby 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 孙 群 . 肉制品脂类氧化[J], 食品科学 , 2002 , 23 (8) 331 ~ 334
- 6 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
- 7 顾国贤主编 . 酿造酒工艺学(第二版) [M]. 北京 : 中国轻工业出版社 , 1996
- 8 李 崎 . 啤酒风味及风味稳定性的研究[D]. 无锡轻工大学 , 1999
- 9 程 康译 . 酿造世界(中文版). 2003(2) 28
- 10 Parsons R , Cope R. The assessment and prediction of beer flavour stability[C]. Eur Brew Con , 1983. 279 ~ 286

Measurement of 2-thiobarbituric Acid(TBA) in Beer

Fu Zhaohui Li Qi Gu Guoxian

(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology , Ministry of Education ,
Southern Yangtze University , Wuxi , 214036)

ABSTRACT Beer flavor stability was an important factor concerned by researchers and brewers. In this paper , the method for analyzing thiobarbituric acid(TBA) was improved. The analysis condition was as follows : absorb wave-length was 530 nm ; the TBA concentration was 0.28% dissolved in 60% acetic acid ; the reaction temperature was 60℃ and the reaction time was 60 minutes. The 60% acetic acid was control. At the same time , the relationship between TBA value and aldehydes and other carbonyl compounds were discussed.

Key words TBA value , beer flavor stability , carbonyl compounds , aldehydes



我国食品企业 HACCP 实施总体指南及评价准则初步建立

由中国疾病预防控制中心承担的“食品企业 HACCP 实施指南研究”课题在北京通过了由科技部组织的专家验收 , 该课题主要取得了以下成果 :

- 1 通过 25 个企业试点 , 研究建立了 6 大类共 15 种食品 HACCP 体系 , 为我国同类食品企业建立 HACCP 体系积累了丰富的技术资料。
- 2 把国际上的 HACCP 原理和经验与我国食品企业的实际情况相结合 , 起草了我国食品企业 HACCP 实施总体指南 , 为我国全面实施食品企业 HACCP 体系奠定基础。
- 3 起草了 6 类食品企业 HACCP 体系的评价准则 , 为食品企业 HACCP 体系提供了评价的标准和程序 , 为管理部门和认证机构对我国食品企业 HACCP 体系的验证和认证工作提供了重要依据。
- 4 卫生部发布了《食品企业 HACCP 实施指南》, 并就熟肉制品、乳制品和果蔬汁饮料的 HACCP 实施指南征求意见。

通过在 20 余家示范企业实施 HACCP 体系 , 我国已初步建立了我国食品企业 HACCP 实施总体指南及评价准则 , 对促进食品企业自身卫生管理和提高食品卫生监督机构的监督管理水平具有很大作用 , 同时对国内同类企业也有很大的示范效应。