脂肪酸值在啤酒酿造辅料大米新鲜度 评价中的应用

李 红^{1,2,3},方贵权¹,李惠萍¹,李 琳²,何 熙¹,张五九³ (1.广州珠江啤酒股份有限公司技术中心,广东 广州 510308; 2.华南理工大学轻工与食品学院,广东 广州 510640; 3.中国食品发酵工业研究院,北京 100027)

摘 要:研究大米脂肪酸值与大米新鲜度的关系,分析大米脂肪酸值对啤酒抗氧化性能的影响。同时考察储藏时间对大米脂肪酸值的影响,并对其变化机理进行探讨。结果表明:大米脂肪酸值的检测方法操作简单,精密度较好。大米脂肪酸值与大米的新鲜度之间有较好的对应关系,脂肪酸值低的大米其新鲜度好。大米的脂肪酸值与麦汁和成熟发酵液的TBA值呈正相关,脂肪酸值越高相应啤酒的氧化程度越高,啤酒的抗氧化性能也越差。大米脂肪酸值随着储藏时间的延长呈线性增加,每延长10d,大米的脂肪酸值增加2~3个单位。大米中的脂肪酶是导致储藏过程中大米脂肪酸值增加的主要原因。

关键词: 脂肪酸值; 大米; 啤酒; 抗氧化; 脂肪酶

Application of Fatty Acid Value in Freshness Evaluation of Rice for Use as Brewing Adjunct

LI Hong^{1,2,3}, FANG Gui-quan¹, LI Hui-ping¹, LI Lin², HE Xi¹, ZHANG Wu-jiu³

- (1. Technology Center of Guangzhou Zhujiang Brewery Co. Ltd., Guangzhou 510308, China;
- 2. School of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;
 - 3. China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100027, China)

Abstract: The relationship between rice fatty acid value (FAV) and freshness was studied and the impact of rice FAV on antioxidant capability of beer was analyzed. Meanwhile, the effect of storage time on rice FAV was investigated and the mechanism underlying its changes was explored. The results showed that acid-basic titration was a simple and precise method for the determination of rice FAV. An obvious correlation was found between the freshness and FAV of rice. Meanwhile, lower FAV represented better freshness. Rice FAV had positive linear correlation with TBA of wort and mature fermented wort. Higher rice FAV could result in extension of the aging process of beer and worse antioxidant capability of beer. Rice FAV exhibited a linear increase with prolonged storage time at a rate of 2—3 units/10 d. The lipase in rice was mainly responsible for increasing the fatty acid value of rice during storage.

 Key words: fatty acid value; rice; beer; antioxidant activity; lipase

 中图分类号: TS261.2
 文献标志码: A
 文章编号: 1002-6630(2013)21-0103-04

 doi:10.7506/spkx1002-6630-201321021

大米是目前我国啤酒酿造行业使用较为广泛的辅助原料之一。对某些啤酒而言,大米的用量甚至超过麦芽的用量,占糖质原料的一半以上。因此大米质量的好坏会对啤酒质量产生重要影响,尤其是大米的新鲜度会对啤酒的抗氧化性能产生明显影响[1]。使用新鲜度差的大米酿造出来的啤酒其抗氧化性能差,啤酒的风味保鲜期短[1],不利于产品的长时间销售。因而大米的新鲜度是啤酒生产企业控制大米质量的重要内容之一,如何快速准确评价大米的新鲜度是啤酒生产企业所关心的问题之一[2-6]。

目前我国啤酒企业普遍采用的评价大米新鲜度的 方法是显色法,包括甲基红与溴百里酚蓝混合显色剂 的显色法、愈创木酚显色反应等。显色法的最大优点 是操作简单,速度快,但这些方法的缺点是不能对大 米的新鲜度作出精确的区分,为质量控制带来不便。 因此建立一种快速准确的定量评价大米新鲜度的方法 具有重要意义。

脂肪酸值是判定稻谷储存品质的一个重要理化指标^[7-8], 该指标能否作为评价啤酒酿造辅料大米新鲜度的指标,

收稿日期: 2012-08-18

基金项目:广州市珠江科技新星计划资助项目(2012J2200050)

作者简介: 李红(1978—), 男, 高级工程师, 博士后, 研究方向为饮料酒。E-mail: cnbjlihong@163.com

还没有明确的说法,大米的脂肪酸值与啤酒的抗氧化性能之间有什么样的关系,还缺乏深入的研究。本研究的主要目的是确定大米脂肪酸值的高低对啤酒抗氧化的影响,为更好地控制大米的新鲜度,提高啤酒的抗氧化性能提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

麦芽、大米、酵母均为国内某企业提供。

对硝基苯酚乙酯(分析纯) 美国Sigma公司; 硫代巴比妥酸(TBA, 纯度≥99%) 美国Merck公司; 其他试剂均为国产分析纯。

DLFU-W23050型麦芽粉碎机 德国Buhler Universal 公司: V3140型分光光度计 澳大利亚GBC公司。

1.2 方法

1.2.1 实验室麦汁制备(模拟大生产工艺)

原料配比:麦芽48g(采用同一批麦芽),大米30g。糊化:全部大米及1g麦芽加水90mL,添加耐高温 α -淀粉酶0.1mL。糊化温度: 70° C(5min) \rightarrow 90 $^{\circ}$ C(30min) \rightarrow 100 $^{\circ}$ C(5min)。糖化:麦芽47g,加水180mL。糖化温度: 45° C(40min) \rightarrow 63 $^{\circ}$ C(30min) \rightarrow 73 $^{\circ}$ C(30min) \rightarrow 78 $^{\circ}$ C(过滤)。过滤后加78 $^{\circ}$ C水,定质量至457g,煮沸30min。

1.2.2 300mL发酵实验

取生产酵母泥适量接入300mL麦汁中,使发酵起始酵母的数达到 $1.5 \times 10^7 CFU/mL$,12 % 恒温发酵(带发酵栓)至发酵8d。

1.2.3 指标分析

1.2.3.1 大米的脂肪酸值

采用酸碱中和滴定法,参考文献[9]的方法。在室温下用水-乙醇提取大米中的脂肪酸,然后采用氢氧化钾标准溶液滴定,计算脂肪酸值。

1.2.3.2 大米的新鲜度评价

采用显色法,参考文献[10]的方法。取2g大米,放于试管中,加入甲基红和溴百里酚蓝指标剂4mL,摇匀,观察溶液时显色情况,米粒越新鲜颜色越绿,已老化的大米粒由黄色变为橙色。

1.2.3.3 麦汁或发酵液氧化程度的评价——TBA值

原理: 样品氧化后产生的羰基化合物与TBA反应生成的化合物在530nm波长处有吸收峰,在此波长处采用1cm比色皿测定其吸光度,该吸光度称为TBA值,根据TBA值的高低比较样品的氧化程度^[11-14]。

基本步骤:取10mL啤酒在10000r/min高速下离心到 澄清。取上清液5mL,加入2mL质量浓度为3.3g/L的TBA 溶液(溶剂是体积分数为50%乙酸溶液),并混合均匀,在 60℃水浴中精确加热60min,然后迅速冷却,于530nm波 长比色,同时以水为空白,并用空白调零。 结果计算:用吸光度表示TBA值,TBA值越大表示氧化程度越严重。

1.2.3.4 大米中脂肪酶酶活的分析

采用对硝基苯酚酯法,参照参考文献[15]中的方法。 酶活单位定义:在室温和pH7.5的条件下,以每分钟 吸光度(波长405nm)增加0.1的酶量为1个活力单位。酶比 活力:每克大米中所含有的酶活单位数。

2 结果与分析

2.1 大米脂肪酸值检测方法的基本性能

大米脂肪酸值的测定方法是采用国家标准 GB/T 20569—2006《稻谷储存品质判定规则》中测定 稻谷的脂肪酸值的方法。但该标准中并没给出此方法性 能的相关信息。良好的性能是一个检验方法能否方便使 用的前提。评价一个检验方法性能的好坏,至少包括精 密度和准确性。精密度一般通过重复性来评价,准确性 一般通过加标回收率来评价。就此方法而言,精密度实 验通过对大米样品平行测定6次,然后计算其标准偏差 和相对标准偏差,通过相对标准偏差来评价其精密度, 但是采用加标回收率来评价该检验方法的准确性并不太 适合。为了评价此方法的准确性,采用了加合性的方法 来评价, 即对两个已知含量的样品采取一定比例进行混 合,并对其脂肪酸值进行检测,然后由理论值与检测值 间的差异来进行评价,本次实验按质量比1:1的比例对两 个样品进行混合。所得此方法的精密度和准确性检测结 果见表1。

表 1 大米脂肪酸值检测方法的基本性能($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 1 The precision of acid-basic titration in determining rice fatty acid value ($\bar{x} \pm s, n=6$)

样品编号	脂肪酸值/(mg KOH/100g)	RSD/%
样品1	15.2±0.6	3.72
样品2	13.0±0.4	4.26
混合样	14.5±0.3	1.95

由表1可知,对不同样品进行6次平行测定,样品检测结果的精密度均较好,样品1的RSD为3.72%,样品2的RSD为4.26%,混合样的RSD为1.95%;混合样测定结果为14.5mg KOH/100g,与理论计算值14.1mg KOH/100g接近。结果表明该检测方法用于检测大米中的脂肪酸含量,其平行性和准确度是有保障的,可以用于对大米的脂肪酸值进行检测。

2.2 大米脂肪酸值与大米新鲜度的关系

根据大米脂肪酸含量的检测结果,分别按脂肪酸检测值高、中、低各取两批次米样,采用显色法进行大米新鲜度的评价,以期发现大米新鲜度与大米脂肪酸值之间是否存在对应关系,所得结果见表2。

表 2 大米脂肪酸值与大米新鲜度的关系

Table 2 Relationship between rice fatty acid value and freshness

	样品	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5	样品6
	显色反应颜色	黄色	黄色	浅黄色	浅黄色	浅绿色	浅绿色
	新鲜度评价	差	差	一般	一般	较新鲜	较新鲜
)	脂肪酸值/(mg KOH/100g)	20.1	21.0	14.2	14.6	8.4	9.1

由表2可知,样品5和样品6的颜色最绿;样品1和样品2的颜色最黄;而样品3和样品4的颜色居中。结合大米脂肪酸值检测结果发现大米脂肪酸值越低,大米的新鲜度越高,大米中脂肪酸值越高,大米的新鲜度越差。这说明大米的脂肪酸值与其新鲜度有较好的对应关系。

2.3 大米脂肪酸值对啤酒抗氧化性能的影响

为了弄清楚大米脂肪酸值对啤酒抗氧化性能的影响,需要采用不同脂肪酸值的大米进行酿造实验,然后对所得的麦汁或啤酒进行抗氧化性能的分析。很多研究表明采用TBA值可以表征样品抗氧化性能的好坏,TBA值越高表示氧化程度高,抗氧化性能也越差^[16]。因此本研究中采用麦汁和发酵液的TBA值来评价样品的抗氧化性能。

2.3.1 大米脂肪酸值对麦汁TBA值和发酵液TBA值的影响

取两批大米,测得其脂肪酸值分别为5.9mg KOH/100g 干基和13.9mg KOH/100g干基。分别采用这两种大米作为 辅料,模拟大生产糖化工艺在实验室制备13°P麦汁,并进行发酵实验,每批大米同时做3个平行,测定麦汁和成熟发酵液的TBA值,结果见表3。

表 3 两不同脂肪酸值大米对应麦汁的TBA值与发酵液TBA值($\bar{x}\pm s,\ n=3$)
Table 3 TBA of wort and corresponding beer made from two rices with different fatty acid values ($\bar{x}\pm s,\ n=3$)

	TBA值			
(mg KOH/100g)	麦汁	发酵液		
5.9	0.191 ± 0.003	0.238 ± 0.012		
13.9	0.209 ± 0.005	0.313 ± 0.027		

由表3可知,用脂肪酸值低的大米制备的麦汁及其发酵液的TBA值也较低,反之较大。对两种大米作为辅料制得的麦汁TBA值的差异性进行方差分析,结果见表4。

表 4 大米脂肪酸值对麦汁TBA值影响的方差分析
Table 4 ANOVA for the effect of rice fatty acid on wort TBA

方差分析	自由度	偏差平方和	均方	F	P
因素	1	0.0004507	0.0004507	33.80	0.004**
误差	4	0.0000533	0.0000133		
总和	5	0.0005040			

注:**. P≤0.01,差异极显著。下同。

由表4可知,两种麦汁的TBA值差异的显著性概率 P=0.004<0.01,说明两组麦汁的TBA值的差异具有高度显著性。同样对两组发酵液TBA值的差异性作方差分析,结果见表5。

表 5 大米脂肪酸值对成熟发酵液TBA值影响的方差分析
Table 5 ANOVA for the effect of rice fatty acid on beer TBA

方差分析	自由度	偏差平方和	均方	F	P
因素	1	0.008437	0.008437	19.18	0.012*
误差	4	0.001760	0.000440		
总和	5	0.010197			

注:*.P≤0.05,差异显著。下同。

由表5可知,两发酵液TBA值差异的显著性概率 P=0.012<0.05,说明两组发酵液的TBA值差异是显著的。因此说明大米的脂肪酸值对啤酒的抗氧化性具有显著的影响,即大米的脂肪酸值越高,啤酒的抗氧化性能就越差。

2.3.2 大米脂肪酸值与麦汁TBA值和发酵液TBA值的关系

取一系列大米,测定其脂肪酸值,模拟大生产糖化工艺在实验室制备13°P麦汁,并进行发酵实验,测定麦汁和成熟发酵液的TBA值,所得结果见表6。

表 6 不同大米的脂肪酸值及其麦汁和发酵液的TBA值

Table 6 TBA of wort and corresponding beer made from rice samples with different fatty acid values

十水採口	脂肪酸值/(mg KOH/100g)	TB	A值
大米样品		麦汁	发酵液
1	28.25	0.206	0.207
2	14.37	0.202	0.259
3	11.28	0.193	0.263
4	19.42	0.210	0.243
5	17.68	0.199	0.235
6	17.38	0.213	0.218
7	5.90	0.191	0.238
8	13.90	0.209	0.313
9	63.04	0.268	0.328
10	73.59	0.284	0.308
11	85.99	0.244	0.298

由表6可知,麦汁的TBA值因大米不同而不同,相应成熟发酵液的TBA值也有差异。对大米脂肪酸值与麦汁和成熟发酵液的TBA值做相关分析,结果见表7。

表 7 大米脂肪酸值与麦汁TBA值及成熟发酵液TBA值的相关性分析
Table 7 Correlation between rice fatty acid and TBA of wort and
mature fermented wort

-	项目	大米脂肪酸值	TBA	A值
	坝日	人不用別數但	麦汁	发酵液
	大米脂肪酸值	1.000	0.896**	0.614*
	麦汁TBA值	0.896**	1.000	0.674*
	发酵液TBA值	0.614*	0.674*	1.000

由表7可知,麦汁的TBA值与大米的脂肪酸值之间 呈现高度显著的正相关性,相关系数为0.896,发酵液的 TBA值与大米脂肪酸值间也呈显著正相关性,相关系数 为0.614,而且都具有统计学上的显著性。

2.4 常温存放对大米脂肪酸值的影响

取一新鲜度较好的大米,将其在低温(4℃)和常温下进行存放,每隔10d测定脂肪酸值,总共跟踪了60d,结果见表8。可以看出,不管是在低温下储藏还是在常温下储藏,大米的脂肪酸值都随着储藏时间的延长而增加。

将大米的脂肪酸值与储藏时间进行回归分析发现,两种储 藏条件下,大米的脂肪酸值均随着储藏时间的延长而呈现 线性增加。常温条件下所得线性回归方程为y=0.303x+6.78, 低温条件下所得线性回归方程为y=0.277x+5.85, 式中: y表 示大米的脂肪酸值/(mg KOH/100g); x为储藏时间/d。

大米脂肪酸值在储藏过程中的变化 Table 8 Change in rice fatty acid values during storage

						mg K	OH/100g
储藏时间/d	0	10	20	30	40	50	60
低温储藏	8.67	8.90	9.23	11.30	16.27	19.87	24.87
常温储藏	8.67	9.85	9.96	14.81	20.56	21.98	25.37

常温储藏脂肪酸值随储藏时间变化的线性回归方程的方差分析 表 9 ANOVA of the regression equation for rice fatty acid versus Table 9 storage time at normal temperature

来源	自由度	偏差平方和	均方	F	Р
回归	1	257.79	257.79	80.99	0.000**
残差误差	5	15.92	3.18		
合计	6	273.71			

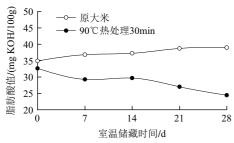
低温储藏脂肪酸值随储藏时间变化的线性回归方程的方差分析 ANOVA of the regression equation for rice fatty acid versus storage time at 4 °C

来源	自由度	偏差平方和	均方	F	P
回归	1	214.95	214.95	39.66	0.001**
残差误差	5	27.10	5.42		
合计	6	242.05			

由表9、10方差分析结果可知,回归方程均在0.01 水平上显著,即高度显著。由回归方程的系数可以知, 大米在常温下存放时间每延长1d,大米的脂肪酸值增加 0.2~0.3个单位。同时从回归方程系数的大小可以看出, 低温储藏可以降低大米脂肪酸值的增加速率,这与前人 的研究结果一致[17-19]。

脂肪酶对大米脂肪酸值的影响

将大米经90℃处理30min后,与原大米于室温下储 藏,每周跟踪检测大米脂肪酸值,所得结果见图1。



热处理对室温储藏过程中大米脂肪酸值的影响

Effect of thermal treatment on rice fatty acid value

由图1可知,大米经90℃处理30min后,其脂肪酸值 略有下降,推测这和热处理作用有关,一方面热处理导 致大米脂肪酸的挥发,另一方面加热处理也加速了游离 脂肪酸的氧化降解。原大米在储藏过程中其脂肪酸值逐 步升高,符合前面研究得出的规律,而热处理之后的大 米,其脂肪酸值随着时间的延长而降低,推测这和热处

理导致大米脂肪酶失活分不开, 对加热处理前后大米的 脂肪酶酶活检测发现,90℃处理30min后,大米的脂肪酶 酶活很低。加热处理后的大米, 因其脂肪酶酶活很低, 因此在储藏过程中其脂肪的水解也很低,另一方面由于 游离脂肪酸容易氧化降解,从而导致随着储藏时间的延 长,其脂肪酸值下降。

综合来说,大米中脂肪酶是导致大米在储藏过程中 脂肪酸值增加的主要原因,因此啤酒生产企业除了要控 制采购大米的新鲜度,缩短库存时间外,还要加强对大 米脂肪酶活力的控制。有研究人员认为米糠中的脂肪酶 会导致米糠脂肪酸值增加[20],和本研究的结果相吻合。

3 结 论

通过本研究探讨大米脂肪酸值与大米新鲜度的关 系,分析大米脂肪酸值对啤酒抗氧化性能的影响。同时考 察了储藏时间对大米脂肪酸值的影响,并对其变化机理进 行初步探讨,得到如下结论:1)大米脂肪酸值的检测方法 操作简单,精密度较好;2)大米脂肪酸值与大米的新鲜度 之间有对应关系,脂肪酸值低的大米其新鲜度好; 3)大米 的脂肪酸值对啤酒的抗氧化性能有重要影响,其与麦汁和 相应成熟发酵液的TBA呈正相关,脂肪酸值越高相应啤酒 的氧化程度越高,啤酒的抗氧化性能也越差;4)大米脂肪 酸值随着储藏时间的延长呈线性增加,大约每延长10d, 大米的脂肪酸值增加2~3个单位; 5)大米中的脂肪酶是导 致大米脂肪酸值增加的主要原因。

参考文献:

- [2] [3]
- 廖惟. 啤酒风味老化和抗老化[D]. 无锡: 无锡轻工业大学, 1998. 彭文红, 张博, 对大米新鲜度检测方法的探讨[J]. 啤酒科技, 2001(6): 36-37. 彭召海, 贺礼见. 检测大米新鲜度的新方法[J]. 啤酒科技, 2002(8): 32. 张静. 几种检测大米新鲜度的方法比较[J]. 啤酒科技, 2003(8): 27-29. 曾文忠, 王丽云, 曾晓华, 等, 啤酒酿造大米的脂肪酸值及风味状况 [4] [5] 曾文忠, 王丽云, 曾晓华, 等. 啤酒酿的研究[J] 啤酒科技, 2005(3): 24; 29.
- 吕吉鸿 大米新陈度检验方法的改进[J] 啤酒科技, 2011(2): 37-38; 40. 梁维权, 沈宗海. 稻谷脂肪酸值测定工作的探讨[J]. 粮油仓储科技通讯, 2007(3): 50-52. [7]
- 無工院, 2007.53.53.52 朱星晔, 韩育梅, 陆晔, 等. 气调储藏对大米脂肪酸值变化的影响[J]. 粮油食品科技, 2010, 18(4): 49-51. [8]
- [9]
- [10]
- 福高時行決。2016。16(4): 47-51: 1 国家粮食局标准质量中心、GB/T 20569—2006稻谷储存品质判定 规则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006. GB/T 5492—1985粮食、油料检验 色泽、气味、口味鉴定法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1985. GRIGSBY J H, PALAMAND S R. Studies on the staling of beer: the use
- of 2-thiobarbituric acid in the measurement of beer oxidation[J]. Journal
- of the American Society of Brewing Chemists, 1976, 34(2): 49-55.
 PARSONS R, COPE R. The assessment and prediction of beer flavor stability[C]//Proceedings of the Congress of the European Brewery [12] Convention. Oxford: Information Press, 1983: 279-286.
- 新纪培, 董建军, 刘景, 等. 啤酒风味老化评价的研究进展[J]. 食品 工业科技, 2008, 29(7): 273-276. MCGIVNEY K. TBA test as an indicator for flavour stability:
- [14] thiobarbituric acid index for wort and beer[J]. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2008, 66(4): 264-265.
- 五秋娟. 产脂肪酶嗜碱细菌的筛选及酶学性质研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2010. 李红, 宋常欣, 吴永阳, 等. 啤酒抗氧化指标与风味保鲜期的相关性研究[J]. 酿酒科技, 2005(1): 57-60; 64. 汤杰, 林光庆, 李明勇, 温度对储粮脂肪酸值的影响[J]. 粮油仓储料 [15]
- [16]
- [17] 技通讯, 2009(2): 47-49.
- [18]
- 按通讯, 2009(2): 47-49.
 金建德, 任动, 应玲红, 等. 不同温度储藏条件稻谷脂肪酸值变化规律初探[J]. 粮食科技与经济, 2010, 35(1): 38-40.
 周建新, 张瑞, 王璐, 等 储藏温度对稻谷微生物和脂肪酸值的影响研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(1): 92-95.
 孙明, 严梅荣, 陈菁, 等. 微波加热不同水分米糠对其储藏和功能性质的影响[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 58-61. [19]