第 22 卷第 6 期
2003 年 11 月

无锡轻工大学学报
Journal of Wuxi University of Light Industry

Vol. 22 No. 6
Nov. 2003

文章编号:1009-038X(2003)06-0046-04

# 啤酒及其泡沫中蛋白质组分的比较分析

叶俊华, 顾国贤, 陆 健
(江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214036)

**摘 要**: 将数种国内知名啤酒的泡沫和酒液分离,分别测定它们的总蛋白质和高分子蛋白质(HMWP)质量浓度.结果显示,泡沫具有富集蛋白质的功能,且泡沫中 HMWP 含量的增加尤为明显;与啤酒原液中的 HMWP 相比,泡沫中的 HMWP 含量与泡持值具有更高的相关性;不同的啤酒样品的 HMWP 在泡沫中的富集能力存在明显的差异,由此从啤酒蛋白的层面提出一项啤酒的质量判定标准.

**关键词**: 泡沫; Bradford 法; 高分子蛋白质; 发泡蛋白
**中图分类号**:TS 262.5 **文献标识码**: A

# Comparative Analysis on the Protein Components in Beer and Beer Foam

YE Jun-hua, GU Guo-xian, LU Jian
(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract**: After separating beer foam from the several well known domestic beers, the total protein and high molecular weight protein in the liquid from the foam and the original beer were determined. The results showed that foam has the function of collecting proteins. The content of HMWP in foam increased obviously, and it has a higher linear relationship with head retention value than that in original beer. By analysing and comparing the data, we found that the enriching ability of HMWP in foam has great differance from one brand to other brands. Based on these results, a standard for judging beer quality was proposed.

**Key words**: foam; Bradford; HMWP; foaming protein

影响泡沫稳定性的因素是多方面的,发泡蛋白被公认为是非常重要甚至是最为重要的因素[1~3].在缺乏对发泡蛋白特异性测定方法的情况下,由 Bradford 法测得的高分子蛋白质与泡持值(HRV, Head retention value)存在近似线性关系[4,5]($r^2$ 约为 0.8),常被用作泡沫稳定性的参考指标[6,7].理论上,对啤酒泡沫的产生及其泡持特性起作用的最主要因素是源于麦芽的糖蛋白,它属于高分子蛋白质.该类糖蛋白具有聚集疏水性氨基酸残基的疏水区域和被链锁住处于尾端的糖类,使其同时具备亲水特征,在 $CO_2$ 的作用下,疏水的头端朝向里面,亲水的糖类朝向外面,形成稳定的泡沫构型[8].此外,少许异葎草酮在其中发挥了增强疏水特性的作用.因此泡持性与高分子蛋白质的含量具有很大程度的相关性.作者在研究过程中出现了一些表面上似乎与理论不符的现象,如实验测得的泡持值与高分子蛋白质之间 $r^2$ 为 0.5~0.6 的相关性,这更说明了啤酒泡沫的复杂性及其研究的现实意义.

收稿日期:2003-05-02; 修回日期:2003-07-01.
作者简介: 叶俊华(1978-),男,江苏泰州人,发酵工程硕士研究生.
万方数据

## 1　材料与方法

### 1.1　实验材料

1.1.1　试样及药品　青岛、太湖水、百威、燕京、三得利等 5 种市售品牌啤酒,面市均不超过 2 个月;牛血清蛋白为 Sigma 公司产品,华美生物工程公司分装;考马斯亮蓝 G250,中国医药集团上海化学试剂公司生产.

1.1.2　设备及仪器　标准泡沫杯,中国啤酒协会推荐;UV-2100 紫外分光光度计,上海 UNICO 制造;SK-1 快速混匀器,江苏环保仪器厂制造.

### 1.2　实验方法

1.2.1　分析样的制备

1) 酒样处理:孔径 0.45 μm 的水相微孔滤膜过滤啤酒样,待分析.

2) 泡沫生成液的制备:酒样沿漏斗边缘匀速倾倒入 1 L 的分液漏斗,至泡沫达 800 mL 刻度线为止,加玻璃皿盖;5 s 后打开出样阀让液体放至恰有泡沫流出,速度控制在 10 s 内放完,立即关闭开关,低温消泡后微滤泡沫生成液,待分析.

1.2.2　分析方法

1) 泡持值:采用国标法按 GB 4928 操作.

2) HMWP 含量测定:Bradford 法[9,10]. 用牛血清蛋白制作标准曲线,该标准曲线的回归方程为

$$y = 1.375\,6x + 0.041\,7$$

$$(R^2 = 0.9908,\quad n=7)$$

式中:$y$ 为吸光度,$x$ 为高分子蛋白质质量浓度 mg/mL

3) 总蛋白质质量浓度:Lowry 法[11]测定.

## 2　结果与分析

### 2.1　酒样的泡持值

国标中的秒表法测定每种酒样的泡持值,测 3 次求平均值,得出它们的泡持值在 256～308 s 之间(见图 1),均达到国标要求.

秒表法测定泡持值,虽然较为粗略,但方便直观,成本低廉,且误差在可以接受的范围内,多次测量求平均值,可以最低限度的减少误差. 所以该方法仍具有较高的参考价值,被许多啤酒生产厂家及科研机构采用.

### 2.2　泡沫生成液与啤酒原液蛋白质质量浓度的差异

通过对啤酒原液和泡沫生成液的总蛋白质及高分子蛋白质的测定,发现后者的总蛋白质及高分子蛋白质质量浓度均明显高于前者,总蛋白质质量浓度的对照见图 2.

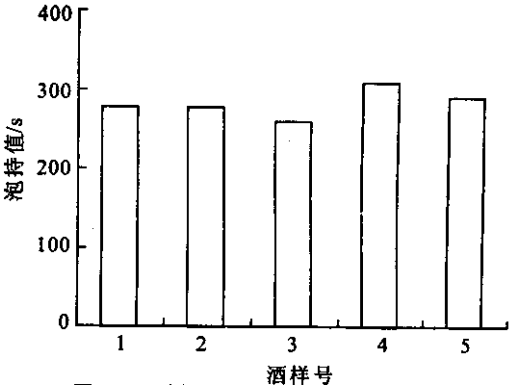



图 1　5 种酒样泡持值的对照柱形图

Fig. 1　The comparison of five beer samples in HRV

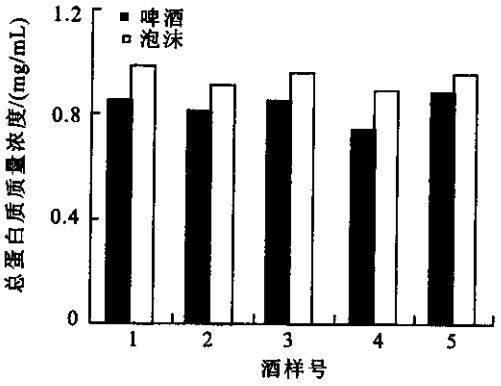



图 2　啤酒原液与泡沫生成液总蛋白质质量浓度比较

Fig. 2　The comparison of total protein Cont. between original beer and liquid from beer foam

啤酒与泡沫总蛋白质质量浓度增加从 0.057～0.147 mg/mL 不等. 通过图 2 可以推断,泡沫具有富集蛋白质的功能. 比较发现,富集的蛋白质主要集中在高分子段,而低分子蛋白质在两者中含量的差异并不显著,说明了低分子蛋白质对泡沫的形成和维持无太大作用,高分子蛋白质则是组成泡沫的重要组分[2,7].

### 2.3　高分子蛋白质与泡持值的相关性

实际应用时,研究者通常是建立啤酒中高分子蛋白质质量浓度与泡持值之间的相关性,这是基于一种直观的考虑. 因为构成泡沫最重要的物质是啤酒中的发泡蛋白,而 Bradford 法[9]测得的相对分子质量为 5 000 以上的高分子蛋白质包括了全部的发泡蛋白,并且发泡蛋白在其中占有绝对的比例. 故可以认为,啤酒中高分子蛋白质越多,作为泡沫支架的发泡蛋白就越多,泡沫越稳定.

作者认为,更为直观的考虑是:泡沫中高分子蛋白质质量浓度与泡持值之间的相关性优于上面两者之间的相关性. 发泡蛋白在泡沫中富集的能力不仅仅取决于蛋白质本身,同时也取决于啤酒体系. 比如体系粘度对富集作用的影响,粘度越大,富

万方数据

集效果越好. 由此可以得出结论,啤酒中发泡蛋白并不一定会按规律系数富集到泡沫中,泡沫中发泡蛋白的量比啤酒中发泡蛋白的量更能够决定泡持值的大小. 分别以泡沫中和酒液中高分子蛋白质为横坐标,泡持值为纵坐标,用 Excel 作图,并求出各自相关性的大小(见图 3,4),结果验证了上面的假设.

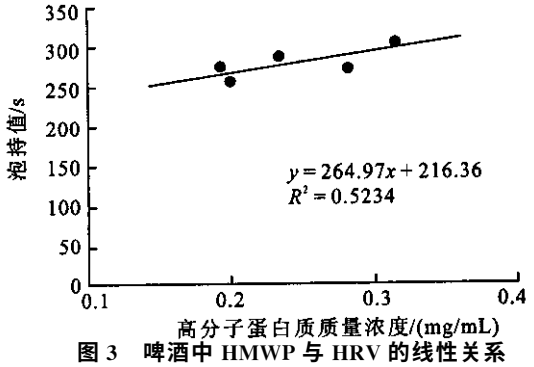



图 3 啤酒中 HMWP 与 HRV 的线性关系

Fig. 3 Linear relation between HMWP and HRV in beer

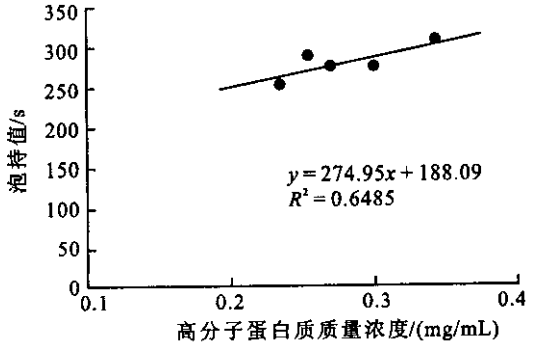



图 4 泡沫中 HMWP 与 HRV 的线性关系

Fig. 4 Linear relation between HMWP and HRV in foam

## 2.4 $R^2$ 值大小及比较的原因

研究 HMWP 与 HRV 相关性的前提条件是,除 HMWP 以外的其它条件应尽可能的相同或相似,而本实验所用酒样,由于生产厂家不同,工艺的差异,以及批生产的偶然因素,导致 $CO_2$、异葎草酮等影响啤酒泡沫的其它因素不尽相同,产生了各啤酒影响啤酒泡持因素个体的差异[12,13],结果使得 $R^2$ 值较之国外资料[4,5]低;$R^2$ 值较小的另一个原因是所研究的对象数量较少,偶然因素一定程度上影响着 $R^2$ 值的大小.

但是,以上原因并不会影响图 3,4 比较的意义,两者的比较实际上是单种啤酒酒液与泡沫中高分子蛋白质质量浓度和泡持值的相关性比较后的统计,是分析对象内部比较后的性质集合,它们之间的比较与个体间的差异无关,因而这种比较是有意义的.

## 2.5 泡沫生成液中的 HMWP 与原酒液增加的百分比的差异

将各酒样泡沫中和原酒液中高分子蛋白质的质量浓度相比,比例系数存在着明显的差异,见图 5. 该结论进一步证明了 2.3 的观点. 从图 5 可以看出,酒样 1 中的 HMWP 在啤酒起泡时的富集力最强,说明相对于其它酒样,1 号酒样中的高分子蛋白质对于泡沫的产生与维系发挥的作用最大,3 号酒样次之,2 号酒样最小.

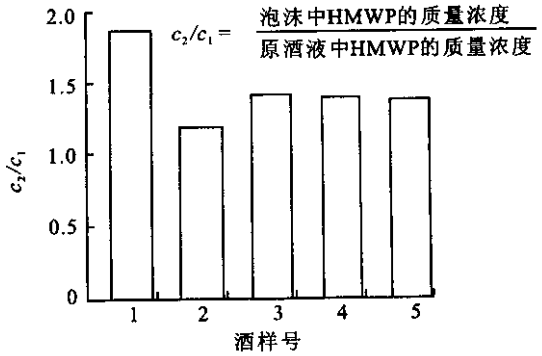



图 5 泡沫与啤酒中 HMWP 含量比值的柱形图

Fig. 5 Ratio histogram of the HMWP cont. in foam to that in beer

## 2.6 HMWP 在啤酒泡沫中富集能力的意义

啤酒 HMWP 在泡沫中富集,有内因和外因两种. 内因即构成泡沫主要成分 HMWP 的特性;而外因则为 HMWP 所在的环境,即啤酒体系的各项理化特征.

麦芽是啤酒中高分子蛋白质的惟一明显来源,故 HMWP 在啤酒中(发泡)功能性的体现是原料中蛋白质的功能性在发酵过程中尽可能保留的结果. 泡沫出现问题的内因来源于原料和(或)加工工艺;泡沫添加剂的使用并不能改变 HWMP 的功能性,却可以改变 HMWP 所在溶液的环境特征. 藻酸丙二醇酯(PGA)是啤酒中常用的稳定剂之一,对于增加啤酒体系的稳定性和泡沫的稳定性具有很好的效果. 分别以 5,10,15,20,25,30 μg/g 的质量分数加入到相同啤酒体系,均匀通气,强制起泡,规范收集产生的泡沫,测定其 HMWP 的质量浓度,结果见图 6.

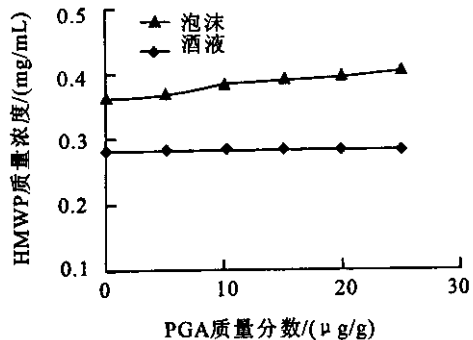



图 6 PGA 添加量对 HMWP 富集能力的影响

Fig. 6 The effect of PGA addition on the enriching ability of HMWP

万方数据

由图 6 可以看出,PGA 的添加在一定程度上改善了 HMWP 在泡沫中的聚集. Jackson 等[12] 对 PGA 的作用机理进行了研究,发现 PGA 可以增加泡沫壁的粘度,进而增强泡沫的稳定性. 与 HMWP 在泡沫中的富集相比,后者对泡沫稳定性的影响并不明显,在啤酒泡沫蛋白缺乏的情况下,PGA 的添加是不能取得令人满意的泡持效果的[13].

啤酒是一种特殊的、敏感复杂的溶液体系,任意改变正常啤酒体系的某一或某些理化特性,只会给啤酒的风味和质量带来负面的影响,因此啤酒的上述理化指标是相对均衡和稳定的. 啤酒添加剂的添加量一般为 50 μg/g[13],增泡剂可以提高 HMWP 在泡沫中的富集,但不能通过增加稳定剂来使这种变化更加显著,这是由啤酒本身的属性决定的.

## 3　结　论

与啤酒中的 HMWP 相比,泡沫中的 HMWP 质量浓度与泡持值具有更好的线性关系,但当以泡沫中的 HMWP 质量浓度作为泡持参照指标时,无疑对泡沫取样过程的一致性提出要求,如啤酒的倾倒、取样的时间限制等.

泡沫生成液中 HMWP 的含量与原酒液相比,如果增加的百分数较大,在泡持值近似的前提下,说明 HMWP 在泡沫产生的因素中占有较重要的地位;反之,说明酒液中 HMWP 的富集能力差,同时也说明发泡蛋白以外的其它因素对泡持作用产生主导,这显然违背了原始啤酒泡沫的属性.

HMWP 的富集能力差,除了上述一些相对稳定的因素外,其本身的质量与功能特性也是关注的焦点. 麦芽是发泡蛋白的唯一明显来源[14,15],麦芽的质量决定着发泡蛋白的质量与功能特性,而工艺则是将这些潜在的质量特征充分表现出来的手段. 对啤酒泡沫而言,当决定泡持特性的主要因素不(仅)是发泡蛋白时,无疑"人工修饰"因素发挥了重要的作用. 添加剂的一个重要作用在于减弱或消除酒体中存在的明显质量缺陷. 优质的原料、正常的生产工艺酿造出的啤酒,在不需要任何添加剂的情况下,也能产生良好的泡沫,甚至可以说最优质的啤酒是不加任何添加剂的,这在欧洲尤其是德国啤酒界是达成共识的. 无可否认,添加剂的使用具有诸多积极的意义,这同样说明了其背后存在着的工艺尤其是原料上的某种缺陷.

## 参考文献:


[1] Evans D E, Sheehan M C, Stewart D C. The impact of malt derived proteins on beer foam quality. Part Ⅱ. the influence of malt foam－positive proteins and non－starch polysaccharides on beer foam quality[J]. **J Inst Brew**, 1999,105(3):171－177.

[2] Kenneth A L, Graham G S, Ian P M. Beer polypeptides and silica gel. Part Ⅱ. polypeptides involved in foam formation [J]. **J Inst Brew**, 2003,109(1):73－79.

[3] Roberts R. Some Aspects of the Stability of Beer Foam[M]. London:Ed Academic Press,1976.

[4] Williams K M, Fox P, Marshall T. A comparison of protein assays for the determination of protein concentration of beer [J]. **J Inst Brew**, 2001,101:365－369.

[5] Evans D E, Sheehan M C. Don't be fobbed off: the substance of beer foam－a review[J]. **J Am Soc Brew Chem**,2002,60(2):47－57.

[6] Dale C, Young T W. Rapid methods for determining the high molecular weight peptide components of beer[J]. **J Inst Brew**, 1987,93:465－467.

[7] Siebert K, Knudsen E J. The relationship of beer molecular weight protein and foam[J]. **Tech Q Master Brew Assoc Am**, 1989,26:139－146.

[8] Charles Bamforth. Beer:Tapping into the Art and Science of Brewing[M]. New York:Plenum Press, 1999. 179.

[9] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. **Analytical Biochemistry**, 1976,72: 248－254.

[10] 汪家政,范明. 蛋白质技术手册[M]. 北京:科学出版社,2002.

[11] 郭勇. 现代生化技术[M]. 广州:华南理工大学出版社, 1996.

[12] Jackson G, Roberts R T, Wainwright T. Mechanism of beer foam stabilization by propylene glycol alginate[J]. **J Inst Brew**, 1980,86: 34－37.

[13] Bamforth C W. The foaming properties of beer[J]. **J Inst Brew**, 1985,91:370－383.

[14] Charles Bamforth. Beer:Tapping into the Art and Science of Brewing[M]. New York:Plenum Press, 1999. 54－58.

[15] Kaersgaard P, Hejgaard J. Antigenic beer macromolecules an experimental survey of purification method[J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 1979,85: 103－111.


(责任编辑:李春丽)

万方数据