

改性凹凸棒石处理对啤酒非生物稳定性的影响

Influence of modified attapulgite on non-biological stability of beer

史经略

SHI Jing-lue

(江苏食品药品职业技术学院生化学院, 江苏 淮安 223003)

(Jiangsu Food and Pharmaceutical Science College, Huai'an, Jiangsu 223003, China)

摘要:研究凹凸棒石的改性条件,以及改性后的凹凸棒石对啤酒中蛋白质的吸附性能,通过单因素试验结合响应面分析,对凹凸棒石的改性和处理条件进行优化,同时测定在不同添加量和不同吸附时间下,经改性凹凸棒石吸附后啤酒的非生物稳定性和泡沫稳定性,以及研究改性凹凸棒石的吸附专一性。结果表明,凹凸棒石在 303 ℃ 下加热 2.54 h 改性后,对引起啤酒冷混浊的活性蛋白具有很强的亲和力;改性凹凸棒石的添加量为 0.875 g/L,吸附时间为 25 min,可使啤酒的 SASPL 值增加 2.0 左右,有效提高啤酒的稳定性,并且对啤酒泡沫稳定性无任何不利的影响。

关键词:非生物稳定性;凹凸棒石;改性;啤酒;蛋白质;吸附

Abstract: Report a study on the modification conditions of attapulgite towards improving its adsorption affinity and specificity of the chill haze protein in beer. Quantity of attapulgite added and adsorption time used were optimized using univariate and multivariate analysis with orthogonal parameter sets. Experiments conducted were focusing on the non-biological stability, foam stability and filtration performance of beer. Adsorption specificity test of the modified attapulgite with the chill haze protein in beer was also presented. An optimal condition for the modification was concluded that the attapulgite be heated at 303 ℃ for 2.54 h. With a quantity of 0.87 g/L added and an adsorption time of 25 minutes and an addition of SASPL value about 2.0, the modified attapulgite manifested a high affinity to the chill haze protein in beer, improved the stability of beer significantly leaving no adverse effect on the beer foam stability.

Keywords: non-biological stability; attapulgite; modified; beer; protein; adsorption

凹凸棒石又称坡缕石,是一种层链状结构的含水富镁铝硅酸盐矿物^[1]。它具有独特的纤维状或棒状晶体形态层链状晶体结构,比表面积较大,具有较强的吸附性能,可吸附酒类、饮料中的蛋白质、色素、单宁等^[2],被广泛应用于轻工、农

业、环保等领域,有“千土之王”、“万用之土”等美誉^[3]。研究^[4]表明,凹凸棒石是一种安全性较高的天然吸附剂、饲料添加剂等,与硅藻土、粉末活性炭等一样,也可作为食品加工助剂。

非生物稳定性较差是啤酒生产中最常见的问题。导致啤酒非生物混浊的主要成分是蛋白质和多酚^[5]。目前,啤酒企业主要采用的啤酒非生物稳定剂有两类:① 吸附啤酒中的多酚物质,如 PVPP;② 蛋白质吸附剂,包括硅胶、卡拉胶、单宁及蛋白分解酶等^[6-7]。利用 PVPP 和硅胶处理啤酒能得到很好的稳定效果,但成本较高^[8];利用蛋白酶处理啤酒可以将啤酒中的蛋白质分解较完全,但会影响到啤酒泡沫的泡持性^[9],因此,利用蛋白酶来提高啤酒非生物稳定性的厂家不多。

目前对凹凸棒石在啤酒方面的应用研究不多,张丙云等^[10]利用硫酸处理凹凸棒石后对啤酒进行蛋白质吸附来提高啤酒的非生物稳定性,但其利用硫酸处理成本较高,且增加了污水的处理量;刘同仁等^[11]利用凹凸棒石作为一种助滤剂,由于接触时间较短,主要起到截流固形物作用,而吸附作用较小。本研究拟利用加热的方式对凹凸棒石进行改性,来提高其对啤酒中蛋白质的吸附能力,以提高啤酒的非生物稳定性,后期无需污水处理,又能增加凹凸棒石矿的附加值,为凹凸棒石应用研究提供进一步的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

鲜啤:12°P 麦芽汁,江苏省食品药品职业技术学院啤酒车间;

凹凸棒石矿土:江苏盱眙鑫源科技有限公司;
氢氧化钠、硼酸、盐酸、邻苯二甲酸氢钾、硫酸:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

硫酸氨:分析纯,天津市津东天正精细化学试剂厂;
单宁:分析纯,上海磊铭化工有限公司;
凯氏定氮催化剂片:北京良科兴业科技有限公司;

作者简介:史经略(1969—),男,江苏食品药品职业技术学院教授,硕士。E-mail: sjlzyh@163.com

收稿日期:2015-07-09

甲基红:分析纯,天津市津东天正精细化学试剂厂;
溴甲酚绿、酚酞:分析纯,北京化工厂。

1.1.2 主要仪器设备

电子天平:ME204 型,梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司;
紫外分光光度计:756M 型,上海精密科学仪器有限公司;
定氮仪:KDN-048 型,上海新嘉电子有限公司;
鼓风干燥箱:DHG-9123A 型,上海精宏实验设备有限公司;
离心机:TDL-80-2B 型,上海安亭科学仪器厂;
马弗炉:SRJX-3-9 型,武汉亚华电炉有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 酒样的预处理 取鲜啤样品置于低速大容量离心机中以 3 000 r/min 离心 10 min 进行啤酒中酵母的沉降,取上清液。

1.2.2 单因素试验

(1) 改性温度的确定:取 8 份凹凸棒石于马弗炉中,分别在 150, 200, 250, 300, 350, 400 ℃ 下处理 2.5 h 后,以 0.75 g/L 添加量添加到经预处理的啤酒中混匀吸附 25 min,以 3 000 r/min 离心 10 min 取上清液测定啤酒中蛋白质分区,并计算吸附量。

(2) 改性时间的确定:取 8 份凹凸棒石于 300 ℃ 马弗炉中,分别处理 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 h 后,以 0.75 g/L 添加量添加到经预处理的啤酒中混匀吸附 25 min,以 3 000 r/min 离心 10 min 取上清液测定啤酒中蛋白质分区,并计算吸附量。

(3) 改性凹凸棒石添加量的确定:取 300 ℃ 改性 2.5 h 的凹凸棒石,分别以 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25 g/L 的添加量添加到经预处理的啤酒中混匀吸附 25 min,以 3 000 r/min 离心 10 min 取上清液分别测定啤酒中蛋白质分区,并测定啤酒的泡持性、饱和硫酸铵极限法(SASPL 值)及强制老化试验循环周期数。

(4) 吸附时间的确定:取 300 ℃ 改性 2.5 h 的凹凸棒石,添加量为 0.75 g/L,吸附时间分别为 10, 15, 20, 25, 30, 35 min。以 3 000 r/min 离心 10 min 取上清液分别测定啤酒中蛋白质分区,并测定啤酒的泡持性、SASPL 值及强制老化试验循环周期数。

1.2.3 响应面法优化处理工艺条件的试验设计 根据 Box-Benhkn 的中心组合试验设计原理^[12],在单因素试验的基础上,以啤酒中 A 区分蛋白质吸附量作为响应值,通过三因素三水平进行响应面优化试验,试验重复 3 次,取平均值,建立回归方程模型。

1.2.4 蛋白质分区测定 采用隆丁区分法^[13]。

1.2.5 啤酒非生物稳定性的测定 采用饱和硫酸铵极限法, SASPL 值指在 10 mL 啤酒样品中所添加饱和 (NH₄)₂SO₄ 溶液的极限毫升数^[14]。SASPL 值越大,啤酒的非生物稳定越好^[15]。

1.2.6 强制老化循环周期数的测定 将经过改性凹凸棒石或硅胶处理的啤酒装瓶、压盖,于 0 ℃ 保藏 1 d,然后置于

60 ℃ 下保藏 1 d 为一个周期,测定浊度,周期循环直到浊度达到 2 EBC,一个周期相当于 1 个月的保质期^[9]。

1.2.7 啤酒浊度的测定 参照文献^[16]。

1.2.8 啤酒泡沫稳定性的测定 采用 Huffman 泡沫测定仪,结果以 Nibem 值表征。

2 结果与分析

2.1 改性温度对凹凸棒石吸附能力的影响

凹凸棒石经过热处理后,凹凸棒石孔道开放和直径扩大,比表面积明显增加,吸附能力显著提高,但温度过高,也会导致凹凸棒石孔径烧结,从而限制其吸附能力。由图 1 可知,凹凸棒石随热处理温度的上升,其吸附啤酒中 A 区分蛋白质的量先增加后减少,在 300 ℃ 时,吸附量达到最大;而蛋白质 B、C 区分的吸附量变化不大。说明凹凸棒石改性温度为 300 ℃ 时,其对啤酒中 A 区分蛋白质的吸附效果较好。

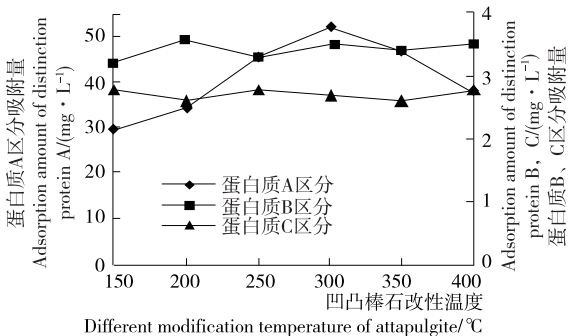


图 1 改性温度对啤酒中蛋白质分区的影响

Figure 1 Changes of protein partition in beer after adsorption by different modification temperature of attapulgite

2.2 改性时间对凹凸棒石吸附能力的影响

由图 2 可知,随着凹凸棒石改性时间的延长,凹凸棒石对啤酒中 A 区分蛋白质的吸附量逐渐增加,而对蛋白质 B、C 区分的吸附量变化也不大。当改性时间达到 2.5 h 时,对啤酒中 A 区分蛋白质吸附达到最大;大于 2.5 h 时,凹凸棒石对啤酒中 A 区分蛋白质的吸附量呈下降趋势,可能是由于改性时间较长导致凹凸棒石孔径烧结,从而限制其吸附能力致使其吸附能力下降。因此凹凸棒石的最佳改性时间应为 2.5 h。

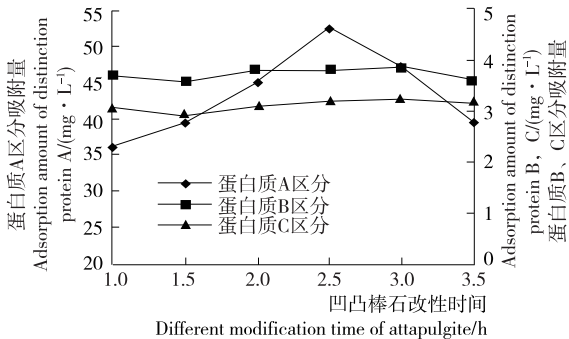


图 2 改性时间对啤酒中蛋白质分区的影响

Figure 2 Changes of protein partition in beer after adsorption by different modification time of attapulgite

2.3 改性凹凸棒石添加量对啤酒品质的影响

在啤酒中影响啤酒非生物稳定性的蛋白质主要为 A 区分蛋白质。由图 3 可知,随着改性凹凸棒石添加量的增加,啤酒中 A 区分蛋白质的含量呈现出下降的趋势,开始下降速度较快;当添加量超过 0.75 g/L 后,啤酒中 A 区分蛋白质量的减少趋缓。由图 4 可知,随着改性凹凸棒石添加量的增加,啤酒的 SASPL 值和抗老化循环周期呈上升趋势,但当改性凹凸棒石添加量增加到 0.75 g/L 后,随添加量的增加,其 SASPL 值增加趋于平缓、抗老化循环周期基本恒定不变。而蛋白质 B、C 区分的含量基本不变,从啤酒的泡持时间也可知,随改性凹凸棒石添加量的增加泡持时间减少趋势平缓,说明改性凹凸棒石对啤酒中蛋白质 B、C 区分中的含量影响不大。因此,为了节约改性凹凸棒石的用量降低成本,应选择凹凸棒石的添加量为 0.75 g/L。

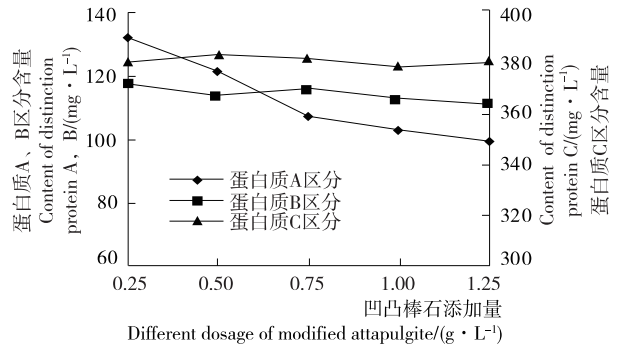


图 3 改性凹凸棒石添加量对啤酒中蛋白质分区的影响
Figure 3 Effect of modified attapulgite added amount on beerprotein partition

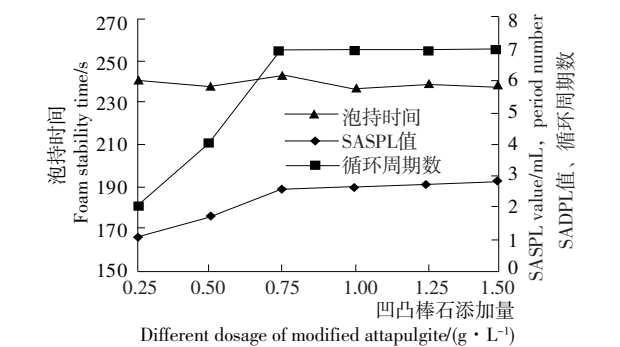


图 4 改性凹凸棒石添加量对啤酒中泡持时间、SASPL 和强制老化循环周期数的影响
Figure 4 Effect of modified attapulgite added amount on beer foaming, SASPL and compulsive aging cycles-mass

2.4 吸附时间对啤酒品质的影响

由图 5 可知,随着改性凹凸棒石对啤酒处理时间的延长,啤酒中 A 区分蛋白质含量逐渐减少,当处理时间达到 25 min 时出现转折;继续延长处理时间,啤酒中 A 区分蛋白质含量下降趋于平缓,究其原因,任何物质的吸附量都有一个吸附饱和值,当达到吸附饱和后,即使延长吸附时间,吸附量也不会增加。因此处理时间 25 min 可能为啤酒 A 区分蛋

白质的吸附平衡点。由图 6 可知,随着处理时间的延长 SASPL 值和强制老化试验循环周期数都在增加,但当处理时间超过 25 min 后,SASPL 值和抗老化循环周期数的变化也不大。而啤酒中蛋白质 B、C 区分的含量随着处理时间的延长变化趋势平缓,啤酒的泡持时间下降较少。从经济角度考虑,改性凹凸棒石与啤酒的最佳处理时间为 25 min。

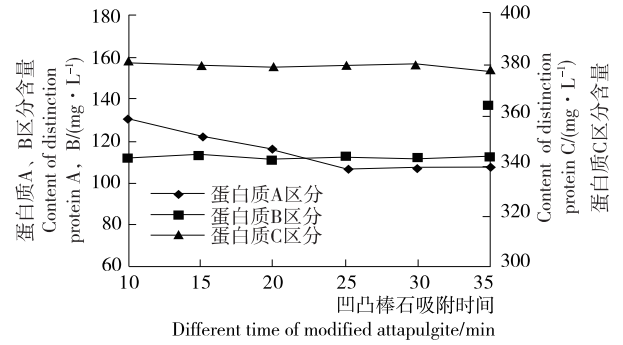


图 5 吸附时间对啤酒中蛋白质分区的影响
Figure 5 Effect of modified attapulgite adsorption time on beer protein partition

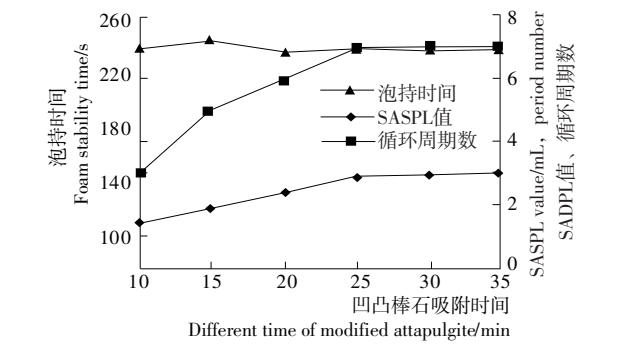


图 6 吸附时间对啤酒泡持性、SASPL 和强制老化循环周期数的影响
Figure 6 Effect of modified attapulgite adsorption time on beer foaming, SASPL and compulsive aging cycles-mass

2.5 响应面法优化试验设计及结果

2.5.1 响应面试验设计 根据单因素试验结果,采用三因素三水平的响应面法,因素编码及水平见表 1。

2.5.2 回归模型的建立与检验 响应面试验设计及结果见表 2。

表 1 Box-Behnken 试验因素水平			
Table 1 Coded values and corresponding actual values of the variables used in Box-Behnken design			
编码	X ₁ 凹凸棒石改性 温度/℃	X ₂ 凹凸棒石改性 时间/h	X ₃ 改性凹凸棒石 添加量/(g · L ⁻¹)
-1	250	2.0	0.50
0	300	2.5	0.75
1	350	3.0	1.00

表 2 Box-Behnken 设计试验结果

Table 2 Box-Behnken design matrix and the responses of the dependent variables adsorption quantity of distinction protein A

编号	X ₁	X ₂	X ₃	Y A 区分蛋白质 吸附量/(mg·L ⁻¹)
1	-1	-1	0	40.6
2	1	-1	0	40.7
3	-1	1	0	41.3
4	1	1	0	42.3
5	-1	0	-1	36.8
6	1	0	-1	37.2
7	-1	0	1	44.3
8	1	0	1	45.9
9	0	-1	-1	38.2
10	0	1	-1	37.9
11	0	-1	1	44.5
12	0	1	1	45.6
13	0	0	0	49.6
14	0	0	0	49.8
15	0	0	0	49.5

由表 3 可知,失拟项 $P=0.066\ 918>0.05$ 影响不显著,因此所选模型适合,可用该模型来拟合试验。此外,凹凸棒石改性温度、改性时间、改性凹凸棒石添加量、凹凸棒石改性温度和改性凹凸棒石添加量交互项及二次项影响显著,其余项影响不显著。

按照 STATISTICA6.0 中 Box-Behnken design 方法,3 个因素经过回归拟合得到啤酒中 A 区分蛋白质吸附量对凹凸棒石改性温度、改性时间、改性凹凸棒石添加量的二次多项式回归方程见式(1):

表 3 回归方程的方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance for the fitted quadratic polynomial model for optimization of adsorption quantity of distinction protein A

方差来源	方差	自由度	均差	F 值	P 值	显著性
X ₁	1.201 3	1	1.201 3	51.482	0.018 9	*
X ₁ ²	73.253 9	1	73.253 9	3 139.453	0.000 3	**
X ₂	1.201 2	1	1.201 2	51.482	0.018 9	*
X ₂ ²	57.730 8	1	57.730 8	2 474.179	0.000 4	**
X ₃	114.005 0	1	114.005 0	4 885.929	0.000 2	**
X ₃ ²	62.953 9	1	62.953 9	2 698.025	0.000 4	**
X ₁ X ₂	0.202 5	1	0.202 5	8.679	0.098 5	
X ₁ X ₃	0.360 0	1	0.360 0	15.429	0.059 1	
X ₂ X ₃	0.490 0	1	0.490 0	21.000	0.044 5	*
失拟项	0.987 5	3	0.329 2	14.107	0.066 9	
纯误差	0.046 7	2	0.023 3			
总方差	286.677 3	14				

[†] * 表示 0.005<P<0.05; ** 表示 P<0.005。

$$Y=-244.921+1.036X_1-0.002X_1^2+758.058X_2-15.817X_2^2+100.00X_3-66.067X_3^2-0.009X_1X_2+0.024X_1X_3+2.8X_2X_3$$

(1)

根据回归方程作出相应的曲面和等高线图,见图 7~9。由图 7~9 可知,随着改性温度的升高其对啤酒中 A 区分蛋白质的吸附量逐渐增加,当增大到最高值后继续提高改性温度其对啤酒中 A 区分蛋白质的吸附量不再增加反而下降,改性温度在 300 ℃ 左右时吸附量有最高值;随着改性时间的延长对啤酒中 A 区分蛋白质的吸附量逐渐增加,但上升到某一最高值后转而下降,改性时间在 2.5 h 左右时啤酒中 A 区分蛋白质的吸附量有最高值;随着添加量的增加对啤酒中 A 区分蛋白质吸附量增加较快,但当达到某一最高值后再继续增加添加量则对啤酒中 A 区分蛋白质吸附量影响不大,有趋于平衡的趋势。添加量在 0.8 g/L 左右时吸附效果最好。

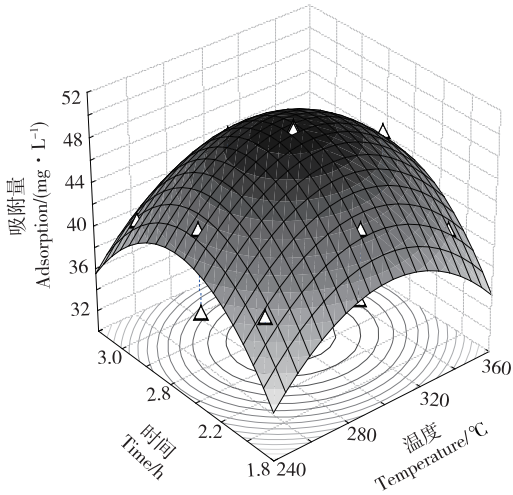


图 7 改性时间与改性温度对 A 区分蛋白质的影响
Figure 7 Response surface showing the effect of modification time and temperature on distinction protein A

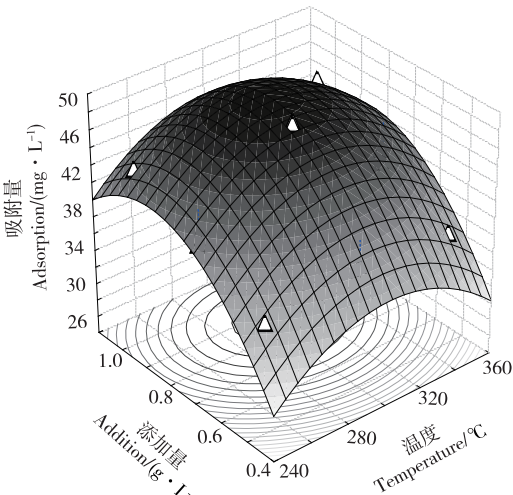


图 8 改性温度与添加量对 A 区分蛋白质的影响
Figure 8 Response surface showing the effect of modification temperature and attapulites addition on distinction protein A

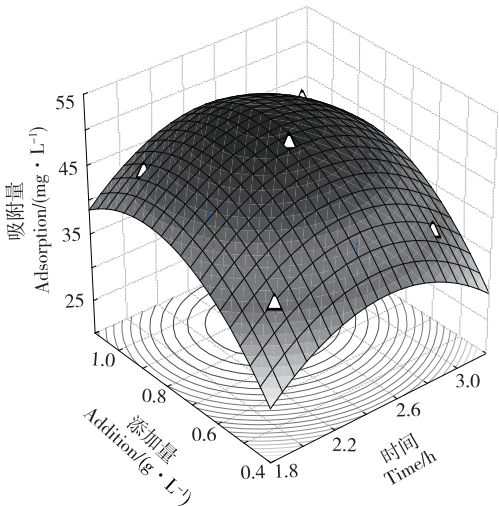


图 9 改性时间与添加量对 A 区分蛋白质的影响
Figure 9 Response surface showing the effect of modification time and Attapulgites addition on distinction protein A

2.5.3 最佳条件优化及验证结果 用 STATISTICA6.0 软件对模型进行分析,以获得凹凸棒石吸附啤酒中 A 区分蛋白质的最佳工艺条件。经分析,在改性温度为 303.04 ℃、改性时间为 2.54 h、添加量为 0.867 g/L 时对啤酒中 A 区分蛋白质吸附量有最大值,为 50.53 mg/L。

为了方便操作,以改性温度 303 ℃、改性时间 2.54 h、添加量 0.87 g/L 进行验证实验,最终啤酒中 A 区分蛋白质吸附量为(49.64±0.73) mg/L,试验值与理论值相差 1.76%。

2.6 改性凹凸棒石和硅胶分别处理后啤酒稳定性对比

分别用改性凹凸棒石和硅胶处理啤酒后对其进行稳定性试验。硅胶处理方法,将硅胶加入到 0 ℃左右待过滤的啤酒中,充分搅拌处理至少 10 min 后过滤测定^[17],其结果见表 4。

表 4 改性凹凸棒石和硅胶处理后啤酒稳定性对比
Table 4 Stability comparison in beer after adsorption by modified attapulgite and silica gel

样品	蛋白质含量/(mg · L ⁻¹)			泡持时间/s	SASPL 值	强制老化循环周期
	A 区分	B 区分	C 区分			
0.87 g/L 改性凹凸棒石处理啤酒	114.2	105.3	376.5	245	2.62	7
0.50 g/L 进口硅胶处理啤酒	113.6	103.4	382.4	238	2.64	7

由表 5 可知,改性凹凸棒石处理的啤酒与硅胶处理的啤酒其蛋白质含量相似,且改性凹凸棒石处理的啤酒的稳定性与用硅胶处理的相似,因此在啤酒生产中利用改性凹凸棒石处理啤酒来提高啤酒的稳定性是可行的。利用改性凹凸棒

石处理啤酒每吨成本 1.74 元和用硅胶处理啤酒成本相比每吨降低 12.26 元左右。

3 结论

本试验通过加热法对凹凸棒石进行改性,并对改性后的凹凸棒石对啤酒中蛋白质的吸附和稳定性的影响进行研究。结果表明,凹凸棒石经过 303 ℃加热 2.54 h 的改性处理后,添加量 0.87 g/L,吸附时间 25 min 对啤酒中 A 区分蛋白质吸附量最高,啤酒非生物稳定性和泡持性可以达到较高水平;与添加 0.5 g/L 硅胶处理啤酒相比,其非生物稳定性和泡持性较好,因此可在啤酒生产中使用改性凹凸棒石代替硅胶来提高啤酒的稳定性,也可为加热改性凹凸棒石在其它行业中的应用提供参考依据。但本试验仅对改性凹凸棒石对啤酒中蛋白质的吸附作了研究,今后可进一步研究其对啤酒中多酚等物质的吸附特性。

参考文献

1 蔡佳佳. 凹凸棒粘土的改性处理及其理化性质研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2012.

2 付君善, 王萍, 夏德强, 等. 凹凸棒原土及盐酸改性凹凸棒对水中 Al³⁺ 的吸附[J]. 石化技术及应用, 2009, 27(1): 6~8.

3 赵萍, 姚莹, 林峰, 等. 凹凸棒石改性方法及其应用现状[J]. 化工生产与技术, 2006, 13(5): 47~49.

4 史经略, 王传荣. 酸改性凹凸棒对红葡萄酒澄清性能的研究[J]. 食品科学, 2011, 32(4): 42~48.

5 Chapon L. The mechanics of beer stabilization[J]. Brew. Gard., 1994, 123: 460~501.

6 高军, 巴秋成. 关于对于硅胶提高啤酒非生物稳定性的探讨[J]. 酿酒, 1999(3): 86~87.

7 钱俊青, 谢祥茂. 稻壳吸附剂提高啤酒稳定性的研究[J]. 离子交换与吸附, 2001, 17(2): 145~151.

8 甘言明, 段安南, 高仰裕. 酿造单宁与硅胶在啤酒生产中的应用对比[J]. 啤酒科技, 2001(12): 41~42.

9 赵阳. 硅胶在啤酒酿造中的应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.

10 张丙云, 李志忠. 凹凸棒土对啤酒稳定性的影响研究[J]. 酿酒科技, 2007(7): 40~41.

11 刘同民, 张乐彬. 凹凸棒粘土—新型啤酒助滤剂[J]. 食品科学, 1992(12): 31~35.

12 唐华丽, 熊汉国, 王伟. 响应面法优化葡萄籽多酚提取工艺[J]. 食品与机械, 2012, 28(6): 147~149.

13 陆海洋, 邓惠芬. 关于蛋白隆丁区分检验的讨论[J]. 啤酒科技, 2014(1): 23~24.

14 战胜, 田国林. 利用 SASPL 值提高啤酒胶体稳定性[J]. 酿酒科技, 2000(4): 64~65.

15 贺立东. SASPL 法预测啤酒保质期的原理及改进[J]. 酿酒科技, 2003(5): 79~80.

16 王宏镭, 刘旭. 啤酒浊度的测定方法研究[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 288~291.

17 李磊. 硅凝胶去除啤酒中形成的浑浊蛋白质[J]. 食品与机械, 1992(3): 42.