

利用电子自旋共振(ESR)研究啤酒 酿造过程中的自由基

严敏¹, 李崎^{1,*}, 董建军², 单连菊², 顾国贤¹

(1.江南大学 教育部工业生物技术重点实验室,江苏 无锡 214036

2.青岛啤酒股份有限公司科研开发中心,山东 青岛 266061)

摘 要: 本文利用电子自旋技术(ESR)考察了啤酒酿造各阶段,包括糖化、煮沸、发酵、过滤中自由基的形成与变化情况。发现煮沸阶段产生自由基最多,发酵阶段自由基含量有所下降,但过滤后又上升。发酵前后啤酒(麦汁)的曲线形态截然不同,说明麦汁所含抗氧化剂(自由基清除剂)种类与发酵后的啤酒不同,前者作用持久,主要在培育后期抑制自由基生成,后者作用迅速,主要在培育初期发挥清除自由基作用。糖化阶段发现的未报道过的新自由基(暂名FR1)与 $\cdot\text{OH}$ 的形成和数量有密切关系。

关键词: 自由基; ESR; 啤酒; 酿造; 糖化

Study on Free Radicals Emerging during Beer Brewing by ESR Method

YAN Min¹, LI Qi^{1,*}, DONG Jian-jun², SHAN Lian-ju², GU Guo-xian¹

(1.Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China

2.Research and Development Center, Tsingtao Brewery Co. Ltd., Qingdao 266061, China)

Abstract: Brewing process including mashing, boiling, fermentation and filtration was studied by electron spin resonance (ESR) method in this paper. It was found that free radicals were yielded mostly during boiling phase, while a decline after fermentation and an increase after filtration occurred. Free radical generation courses of each phase before or after fermentation were different, especially between wort and beer, which meant different kinds of oxidants in them. The former has a persistent effect mainly inhibiting the antioxidant formation in late incubation, while the latter has a rapid effect of scavenging the antioxidant in the early incubation. A new-type free radical (FR1) is found in the saccharifying phase related intimately to the formation and quantity of $\cdot\text{OH}$.

Key words: free radical; ESR (electron spin resonance); beer; brewing mashing

中图分类号: TS262.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)02-0064-03

自由基对啤酒风味稳定性, 老化物质及浑浊物质的形成存在影响的理论已被广泛接受, 一般认为, 活性氧自由基(active oxygen radical)在啤酒氧化过程中起重要作用, 其中羟基自由基($\cdot\text{OH}$)是最活泼的自由基。

KANEDA 等人首次采用以 PBN (2-苯叔丁基硝酮) 为捕集剂的 ESR 法测定啤酒中自由基, 结果表明啤酒风味劣化与自由基有关^[1-3], 这些自由基几乎可以和啤酒中所有的物质发生反应, 如不饱和脂肪酸、高级醇和异律草酮发生反应, 导致氧化性老化味的产生。UCHIDA M 等人通过进一步研究^[4-5]发现: 温度影响啤酒自由基的生成量; 过滤介质中过渡离子的含量影响自由基的生成量; 发酵过程中各种影响自由基的生成量的因素都影响

发酵成品的稳定性。

本文对啤酒酿造过程包括糖化、煮沸、发酵、过滤阶段自由基的形成情况作较为详细的研究, 并初步探讨了糖化阶段 $\cdot\text{OH}$ 与新发现的 FR1 自由基间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

PBN (纯度 98%) Sigma 公司; 耐高温 (α -淀粉酶) 无锡杰能科生物工程公司。

1.2 主要仪器

EMX 10/12 型电子自旋共振仪 德国 BRUKER 公司; UV2100 型分光光度计 上海合利仪器有限公司;

收稿日期: 2005-11-11

*通讯作者

作者简介: 严敏 (1980-), 女, 硕士研究生, 主要从事啤酒抗氧化研究。

糖化仪 杭州博日科技有限公司;电热恒温水浴锅 上海医疗器械五厂。

1.3 方法

1.3.1 糖化曲线(如图1)

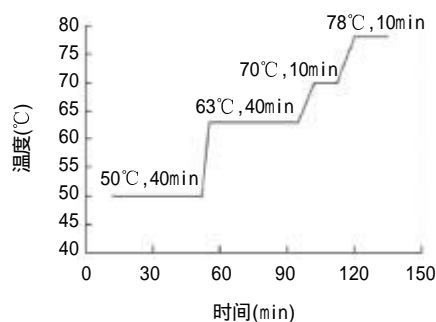


图1 糖化工艺曲线

Fig.1 Curve of mashing processing

1.3.2 自由基测定方法

将0.5ml 麦汁装入具塞试管,外覆铝箔避光,加入PBN溶液(溶剂:50%乙醇-水)使其终浓度达到0.02 mol/L,混匀,置于60℃水浴中,促使自由基产生,于300min时取样测定。

ESR 测定条件:中心磁场3475.00G;微波功率4mW;微波频率9.7GHz;调制频率200kHz;调制幅度2.00G;温度室温;扫描时间3min。

2 结果与分析

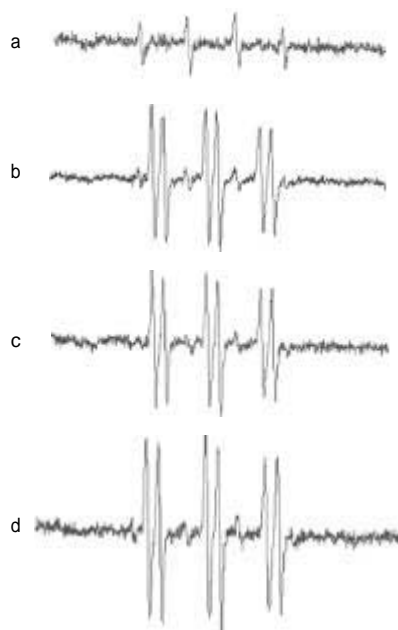
2.1 酿造过程中的典型自由基

利用电子自旋共振(ESR)仪可以直接测定自由基,采用PBN为自旋捕集剂捕集啤酒(麦汁)中的自由基,其含量多少表现在波谱上即为信号强弱,或称峰高。图2为酿造过程样品(糖化麦汁、煮沸麦汁、发酵液、清酒)的ESR谱。

由图2a可知,糖化过程并不是我们推测的那样,而是产生了一种未曾报道过的新自由基,目前尚无法断定其类别,暂命名为FR1。FR1贯穿整个啤酒酿造过程,但含量越来越少,同时未在成品啤酒中检出(数据未列)。在2.2中将对FR1作进一步研究讨论。

图2b显示煮沸时 $\cdot\text{OH}$ 大量产生,说明高强度的加热使得自由基反应加剧。

图2c所示为发酵液的ESR谱,发酵过程中代谢非常旺盛,风味物质大量形成,由于前期的供氧,使得发酵液中存在超氧自由基,及后续的 $\cdot\text{OH}$,这些自由基活性很强,作为反应中介传递自由基,加速氧化还原链向下传递。但可能因为发酵时某些代谢产物具有清除自由基或抑制自由基产生的能力,使得发酵液的羟基自由基含量较煮沸麦汁少(图2b)。



a、b、c、d 分别取自糖化麦汁、煮沸麦汁、发酵液、清酒。

图2 酿造过程自由基变化

Fig.2 Typical patterns and contents of free radicals during brewing process

清酒产生的自由基(图2d)较发酵阶段(图2c)产生的多,说明过滤对酒液自由基含量影响较大。主要原因是由硅藻土带入的铁离子作为催化剂催化了Fenton反应。

2.2 自由基生成曲线

样品置于60℃水浴加热,隔时取样进行ESR测定,以ESR谱的峰高对取样时间作图,即为自由基生成曲线。图3为酿造过程的自由基生成曲线。

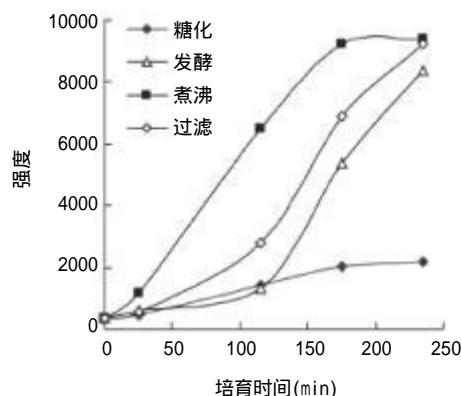


图3 酿造过程自由基生成曲线

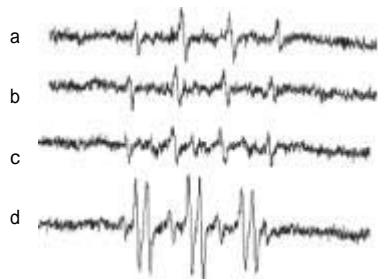
Fig.3 Free radical generation course during brewing process

由图3可知四阶段曲线分为三种类型,第一类:糖化,曲线上升趋势一直较缓慢;第二类:煮沸,曲线上升趋势先快后慢;第三类:发酵、过滤,曲线上升

趋势先慢后快。初步推测这种情况与样品所含自由基清除剂的种类和数量有关,发酵液和清酒中极可能含有一种作用迅速的清除剂A,使得在培育初期产生的自由基很快被清除;煮沸麦汁有可能含有某种作用较缓慢但效果强烈的清除剂B,使得在培育初期增长较快而后期近乎零增长;比较糖化麦汁和煮沸麦汁的差异,主要来自于煮沸阶段的持续高温加热,部分清除剂B被破坏,使煮沸麦汁自由基含量的整体水平高于糖化麦汁。

2.3 糖化阶段自由基的变化

针对糖化阶段出现的FR1,我们将此过程放大,按图1糖化曲线加工麦芽,分别在50、63、70、78℃保温结束后取样,于60℃培育5h测定自由基,ESR谱如图4所示。



a、b、c、d 分别在50、63、70、78℃保温结束后取样。

图4 糖化各阶段的ESR谱
Fig.4 ESR spectra of samples of mashing process

在糖化前期即63℃保温结束之前(图4a、4b),醪液中仅存FR1一种自由基;70℃保温结束(图4c)·OH开始出现,但含量甚少,至78℃保温结束(图4d),·OH信号非常明显,FR1减小,仍可辨别。很明显该过程中·OH逐渐增加而FR1逐渐减少。因此我们推测FR1与·OH之间有某种反应链上的因果关系,由于自由基反应是链式反应,触发后以级数增加,所以两者并不是一对一的转化关系。

3 结 论

3.1 啤酒酿造过程中自由基在种类和数量上都存在变化,糖化阶段出现新型自由基(暂命名为FR1),由于煮沸阶段持续高温加热,产生自由基总量最多,发酵阶段产生一些有抗氧化能力的代谢产物,使发酵液自由基含量有所下降,而过滤后清酒自由基含量又回升,原因在于由硅藻土带入的铁离子作为催化剂催化了Fenton反应。

3.2 通过比较不同酿造阶段的自由基生成曲线间的差异,发现发酵前后啤酒(麦汁)的曲线形态截然不同,说明发酵前后啤酒(麦汁)中的抗氧化剂(自由基清除剂)种类发生变化,啤酒中的清除剂A作用迅速,主要在培育初期发挥清除自由基作用,而麦汁中的清除剂B作用持久,主要在培育后期抑制自由基生成。

3.3 对比糖化与煮沸阶段的自由基生成曲线,发现煮沸麦汁自由基含量的整体水平高于糖化麦汁,原因是煮沸阶段持续高温加热使清除剂B含量大幅减少。

3.4 糖化阶段产生的FR1与·OH有密切关系,随酿造的进行,FR1逐渐减少,·OH逐渐增多,将进一步跟踪研究FR1这一与啤酒老化密切相关的新型自由基。

参考文献:

- [1] KANEDA H, KANO Y, KAMIMURA M. A study of beer stalling using chemiluminescence analysis[J]. Inst Brew, 1991, 97: 105-109.
- [2] KANEDA H, KANO Y, KAMIMURA M. Detect of free radicals in beer oxidation[J]. Food Sci, 1988, 55: 885-888.
- [3] KANEDA H, KANO Y, KAMIMURA M. The role of free radicals in beer oxidation[J]. Am Soc Brew Chem, 1989, 47: 49-53.
- [4] UCHIDA M, SUGA S, ONO M. Improvement for oxidative flavor stability of beer-rapid prediction method for beer flavor stability by electron spin resonance spectroscopy[J]. Am Soc Brew Chem, 1996, 54: 205-211.
- [5] UCHIDA M, SUGA S, ONO M. Technological approach to improve beer flavor stability: analysis of the effect of brewing processes on beer flavor stability by the ESR method[J]. Am Soc Brew Chem, 2000, 58: 8-13.

信 息

鱼虾保鲜新科技

在餐饮业,鲜活食品很受青睐,故鲜活食品在运输中的保鲜问题倍受人们关注。

在国外,有一种用开有气孔的板子把装有海水的容器隔成多层,再用泡沫苯代乙撑空心颗粒把各层的鱼轻轻夹住,使他们在容器中保持横卧的姿势,注入充足的氧气,即使经过3d以上的长途运输,容器中的鱼也鲜活无恙。

国外根据消费者的需要还试制成功了活鱼罐头。罐头里灌有足量氧气的水,这些氧气足够鱼儿活上几星期。

美国研制出一种密封、隔热并能自动折合的聚苯乙烯板包装箱,专用于活龙虾的运输。这种箱子可装9kg活龙虾,箱内装有1瓶冰水,以保持活龙虾处于冷藏的状态。40h内,龙虾不会死亡。

利用电子自旋共振(ESR)研究啤酒酿造过程中的自由基

作者: [严敏](#), [李崎](#), [董建军](#), [单连菊](#), [顾国贤](#), [YAN Min](#), [LI Qi](#), [DONG Jian-jun](#), [SHAN Lian-ju](#), [GU Guo-xian](#)

作者单位: [严敏, 李崎, 顾国贤, YAN Min, LI Qi, GU Guo-xian](#)(江南大学, 教育部工业生物技术重点实验室, 江苏, 无锡, 214036), [董建军, 单连菊, DONG Jian-jun, SHAN Lian-ju](#)(青岛啤酒股份有限公司科研开发中心, 山东, 青岛, 266061)

刊名: [食品科学](#) 

英文刊名: [FOOD SCIENCE](#)

年, 卷(期): 2007, 28(2)

被引用次数: 3次

参考文献(5条)

1. [KANEDA H;KANO Y;KAMIMURA M](#) [A study of beer stalling using chemiluminescence analysis](#) 1991
2. [KANEDA H;KANO Y;KAMIMURA M](#) [The role of free radicals in beer oxidation](#) 1989
3. [KANEDA H;KANO Y;KAMIMURA M](#) [Detect of free radicals in beer oxidation](#)[外文期刊] 1988
4. [UCHIDA M;SUGA S;ONO M](#) [Technological approach to improve beer flavor stability:analysis of the effect of brewing processes on beer flavor stability by the ESR method](#)[外文期刊] 2000(1)
5. [UCHIDA M;SUGA S;ONO M](#) [Improvement for oxidative flavor stability of beer-rapid prediction method for beer flavor stability by electron spin resonance spectroscopy](#) 1996

引证文献(3条)

1. [田玉红](#). [杨朝霞](#). [王书谦](#) [利用电子自旋共振技术评估啤酒的抗氧化剂](#)[期刊论文]-[酿酒科技](#) 2010(4)
2. [田玉红](#). [纪秀萍](#). [张宇昕](#). [郝俊光](#) [电子自旋共振技术在评价啤酒新鲜度中的应用](#)[期刊论文]-[酿酒科技](#) 2009(12)
3. [何军山](#). [曹慧芳](#). [安飞云](#) [体外羟自由基测定条件的优化与应用](#)[期刊论文]-[卫生研究](#) 2008(5)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_spkx200702013.aspx