

# 酿造过程中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的变化情况及对理化指标的影响

王志萍<sup>1</sup>, 冯作山<sup>1</sup>, 杨静<sup>1</sup>, 王德良<sup>2</sup>, 王晓娟<sup>1</sup>, 陈旭<sup>1</sup>

(1.新疆农业大学食品科学学院,新疆 乌鲁木齐 830052;2.中国食品发酵工业研究院酿酒工程部,北京 100027)

**摘要:** 对酿造全过程中脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)进行全方位的跟踪测定,研究 DON 在各个过程中的变化情况,及其对麦芽和啤酒相应理化性质的影响。研究表明, DON 在浸麦过程中严重损失,损失了 88.6%,发芽和糖化过程中 DON 的含量有所增加,烘干、煮沸和发酵过程中几乎没有变化。另外, DON 会影响大麦的发芽率,导致产生的酶和麦芽浸出物减少,库尔巴哈值降低,粘度增大,糖化力增大。DON 还使麦芽中  $\alpha$ -氨基氮和可溶性氮的含量降低,从而导致高级醇的含量增加,酯的含量降低,醇酯比升高,最终影响啤酒的风味。

**关键词:** 啤酒生产; 脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 变化情况; 高级醇;  $\alpha$ -氨基氮; 风味

中图分类号:TS262.5;TS261.4 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2009)05-0047-04

## The Change of Deoxynivalenol during Beer Brewing & Its Effects on Beer Physiochemical Indexes

WANG Zhi-ping<sup>1</sup>, FENG Zuo-shan<sup>1</sup>, YANG Jing<sup>1</sup>, WANG De-liang<sup>2</sup>, WANG Xiao-juan<sup>1</sup> and CHEN Xu<sup>1</sup>

(1.College of Food Science, Xinjiang Agriculture University, Urumqi, Xinjiang 830052; 2.Department of Wine-making Engineering, China National Institute of Food Fermentation Industry, Beijing 100029, China)

**Abstract:** The purpose of this study was to investigate the change of deoxynivalenol (DON) contamination/level during each stage in beer and the effects of DON change on beer physiochemical indexes. The research showed that there was serious loss of DON in the process of barley steeping (loss of 88.6%), DON content increased in germination and saccharification process, and there was almost no change in DON in kilning, boiling and fermentation process. In addition, DON change would influence the germination rate of barley and result in low enzyme production and malt extract. Besides, DON would reduce the kolbach index of protein dissolution,  $\alpha$ -amino nitrogen and soluble nitrogen content, and increase the viscosity and the saccharifying power, which would further result in the increase of higher alcohol content and the decrease of ester content (the ratio of alcohols to esters increased) and finally influence beer flavor.

**Key words:** beer brewing; deoxynivalenol (DON); change; higher alcohol;  $\alpha$ -amino nitrogen; beer flavor

啤酒已经成为全世界人民饮食的重要组成部分。据调查,1993年加拿大啤酒的人均消费量为69L,美国是88L;1995年最高的人均消费量是140L。而大量的啤酒中均检测出真菌毒素,啤酒中的真菌毒素对公众健康的影响还不确定,但是对宠物、家畜及其他的副产品的影响较为严重,而且很危险。啤酒中真菌毒素的来源主要包括两个方面,一是被污染的麦芽用于制麦和发酵过程中,另外是酿造过程中产生的。真菌毒素不但对公众健康存在危害,同时它影响着啤酒的风味、色泽等相关的品质,针对此现象,本实验开展了酿造全过程中脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)的跟踪测定,研究制麦和酿造过程中 DON

的变化情况,以及 DON 对制麦、发酵和啤酒品质的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

除特殊注明外,所有试剂均为分析纯,水为超纯水。甲醇:HPLC级色谱纯;DON标准品:美国SIGMA公司,纯度99%;聚乙二醇(PEG):分子量8000;甘氨酸;发色剂。

#### 1.2 主要仪器

Series 200 高效液相色谱仪,美国PerkinElmer公司;

收稿日期:2009-01-05

作者简介:王志萍(1983-),女,黑龙江人,在读硕士研究生,主要从事啤酒及其原料中真菌毒素及其对酿造性能的研究。

通讯作者:冯作山,男,教授,E-mail:fengzuoshan@126.com。

ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 柱, 美国安捷伦公司; 氮气吹干仪 KL512J, 北京康林科技有限责任公司; KQ-100DE 型医用数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; DON Test HPLC 免疫亲和柱, 美国 SIGMA 公司; 微纤维滤纸, 美国 SIGMA 公司; PE 气相色谱仪, PE HS-40 全自动顶空进样器; 紫外分光光度计。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 DON 检测方法

称取 25.00 g 粉碎的大麦于三角瓶中, 加入 5 g 聚乙二醇 8000(PEG)和 100 mL 超纯水, 放到超声波清洗器中均质 1 h, 用快速滤纸过滤, 再用微纤维滤纸过滤, 收集滤液。准确移取 1 mL 上述滤液注入免疫亲和柱净化, 用 5 mL 超纯水以 2 滴/s 的流速冲洗柱子, 直至空气进入柱子。加入 1.5 mL 色谱级甲醇洗脱, 流速为 1 滴/s, 收集洗脱液于玻璃试管中, 然后用氮气在 50 °C 下吹干。再用 0.25 mL 流动相定容, 用液相色谱检测<sup>[1]</sup>。标准品检测结果见图 1、图 2。

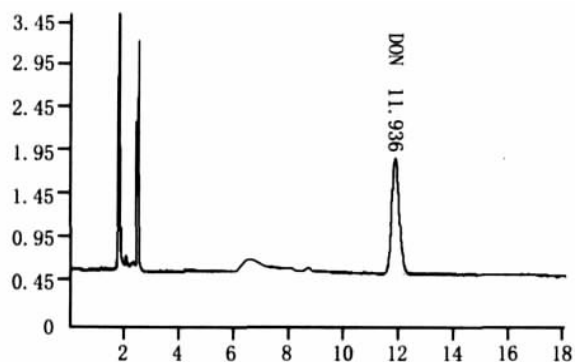


图 1 5 µg/g DON 标准品的色谱图

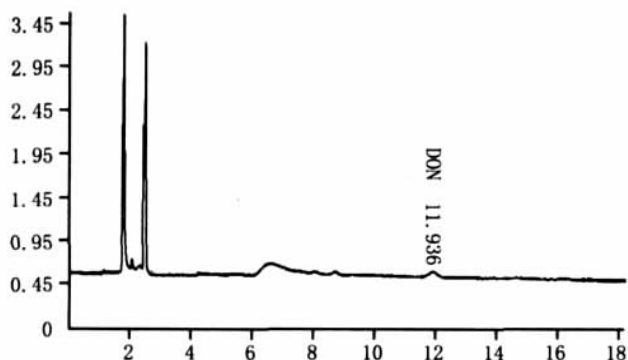


图 2 大麦中 DON 的色谱图

#### 1.3.2 α-氨基氮测定

取麦汁 1 mL, 用水稀释至 100 mL, 取 9 支试管并编号, 于 1 号、2 号、3 号号管中分别加入样液 2 mL; 于 4 号、5 号、6 号管中分别加入蒸馏水 2 mL; 于 7 号、8 号、9 号管中分别加入甘氨酸标准使用液 2 mL。9 支试管中各加入发色剂 1 mL, 并分别放一粒玻璃球与试管口上, 将

试管放入沸水浴中, 准确加热 16 min, 在 20±0.1 °C 水中冷却 20 min。再各加入稀释溶液 5 mL, 充分摇匀。用空白液管(4 号、5 号、6 号管)调节仪器零点, 于 570 nm 波长下, 测量吸光度。测量应在 30 min 中内完成。

$$X_1 = \frac{A_1 \times 2 \times n}{A_2}$$

式中:  $X_1$ ——麦芽汁中的 α-氨基氮含量, mg/L;

$A_1$ ——样液的平均吸光度;

$A_2$ ——甘氨酸标准使用液的平均吸光度;

2——甘氨酸标准使用液中 α-氨基氮的含量, mg/L;

$N$ ——样液的稀释倍数。

$$X_3 = \frac{X_1(800 + X_2) \times 10}{D_{20}(100 - G)(100 - X_2)}$$

式中:  $X_3$ ——麦芽中 α-氨基氮含量, mg/100 g 无水麦芽;

$X_1$ ——麦芽汁中的 α-氨基氮含量, mg/L;

$X_2$ ——同一样品麦芽的商品水分, g;

$D_{20}$ ——同一样品麦芽汁(20 °C 时)的比重;

$G$ ——同一样品麦芽汁的浸出物, g。

#### 1.3.3 啤酒风味物质的测定

顶空进样器条件: 样品温度 50 °C, 加热时间 35 min。

气相色谱条件: 柱温 35 °C 保持 3 min, 以 10 °C/min 升温至 190 °C; 进样器温度 150 °C; 检测器温度 200 °C; 载气为高纯氮气。

样品前处理: 移取 10 mL 未除气啤酒于 20 mL 顶空进样瓶中, 加入正丁醇内标溶液, 加密封垫, 铝盖压紧。将密封后的进样瓶放入顶空进样器中进行测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 制麦过程

#### 2.1.1 DON 含量的变化情况

对精选后的大麦分别进行加标, 其加标量为 5.0~20 µg/g, 浸渍水中, 使达到发芽所需要的水分, 浸麦后在人工条件下进行发芽, 利用发芽过程形成的酶系, 使大麦的内溶物质进行分解, 培养麦芽再热空气烘干。对各个过程的 DON 含量进行测定, 数据表明浸麦过程中 DON 严重损失, 损失了 88.6%, 但是经过 5 d 的发芽, DON 的含量又有所增加, 能有 24.6% 残存, 烘干对 DON 含量的影响很小。结果见表 1。

表 1 DON 不同浓度不同过程的残留量

浓度(µg/g)	DON, 残留量(%)		
	浸麦	发芽	烘干
5.0	10.3	23.8	23.7
10.0	11.1	24.1	24.1
15.0	11.9	24.9	24.6
20.0	12.4	25.5	25.5
平均值	11.4	24.6	24.5

#### 2.1.2 DON 对麦芽及其相应指标的影响

制麦过程中 DON 的增多会影响大麦的发芽,使大麦的发芽率降低,用于制麦的大麦要具有 95% 以上的发芽率,如果发芽率低于 95%,所产生的酶和麦芽浸出物就会减少<sup>[2]</sup>。由图 1 可知,DON 使大麦的发芽率降低,导致浸出物减少,库值降低,粘度增大,糖化力增大。DON 还会影响麦芽其他成分的含量,如图 2 所示,感染 DON 的麦芽中  $\alpha$ -氨基氮和可溶性氮的含量都有所减少。 $\alpha$ -氨基氮含量低时,酵母将进行合成代谢途径,合成自身所需氨基酸,从而形成较多的  $\alpha$ -酮酸中间体,产生较多的高级醇,对啤酒的风味有着及其显著的影响。

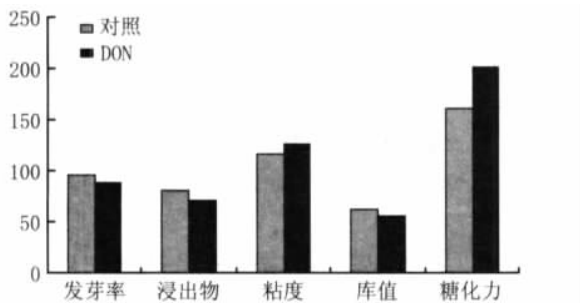


图 3 DON 对发芽率、浸出物、粘度、库值和糖化力的影响

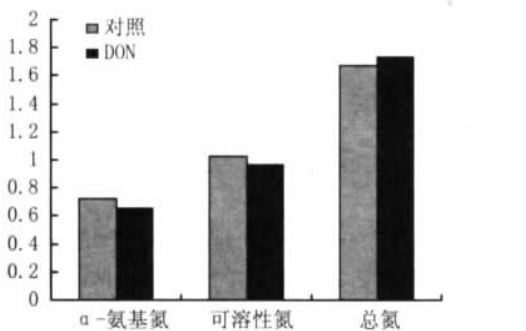


图 4 DON 对  $\alpha$ -氨基氮、可溶性氮和总氮的影响

## 2.2 酿造过程

### 2.2.1 DON 的变化情况

糖化过程中 DON 含量没有减少,反而增加了,这可能是一些蛋白质释放了一些 DON<sup>[3]</sup>,DON 在煮沸的麦芽中非常稳定,几乎没有损失,发酵过程中 DON 也没有损失,结果见表 2。

表 2 DON 不同浓度不同过程的残留量

浓度( $\mu\text{g/g}$ )	DON, 残留量(%)			
	麦芽	糖化	煮沸	发酵
5.0	23.7	31.3	31.4	30.9
10.0	24.1	30.3	30.0	30.5
15.0	24.6	31.7	31.3	31.1
20.0	25.5	32.8	32.6	32.2
平均值	24.5	31.5	31.3	31.2

### 2.2.2 DON 对啤酒理化指标的影响

在酿造过程中,DON 能够促进蛋白酶的产生,进一

步分解麦芽中多余的蛋白质。这些都将影响啤酒的色泽、风味和啤酒的 pH 值,使 pH 值升高,结果见图 5。一般 pH 值越高,越有利于高级醇的形成,从而导致啤酒风味的改变。

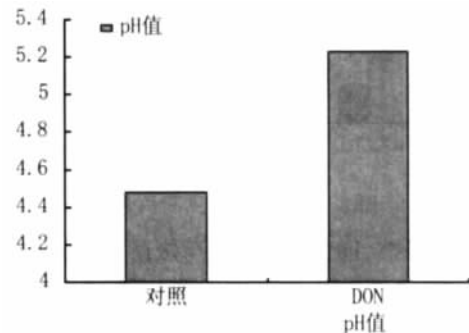


图 5 DON 对啤酒 pH 值的影响

另外,发酵过程中,DON 能够使高级醇的含量增加,使酯的含量降低。图 6~图 8 为一定含量的高级醇的啤酒,高级醇能赋予啤酒以醇厚、泡沫细腻、有筋骨、丰满之感,但是高级醇的含量过高或过低都对啤酒的风味产生不良影响<sup>[4]</sup>。高级醇含量过高,如异戊醇和异丁醇过量则使啤酒带有杂醇油臭,产生不愉快的苦味,而且使人饮后有头昏头痛的感觉等,正丙醇含量超过高级醇含量的 20% 时,饮后有不良风味感。高级醇对人体是有毒害的,与乙醇相比,其毒害性更大,其中丙醇的毒性相当于乙醇的 8.5 倍,异丁醇为乙醇的 8 倍,异戊醇为乙醇的 19 倍,毒性主要是抑制神经中枢,对交感神经、视觉神经等产生伤害。

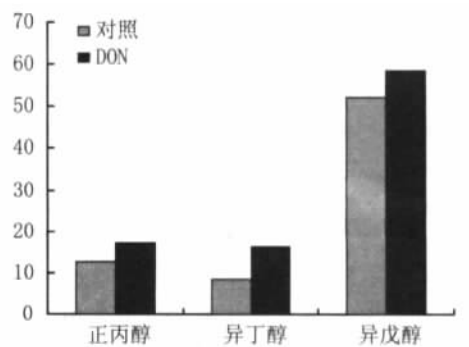


图 6 DON 对高级醇含量的影响

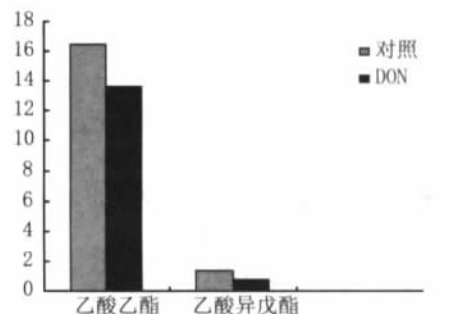


图 7 DON 对乙酸乙酯和乙酸异戊酯的影响

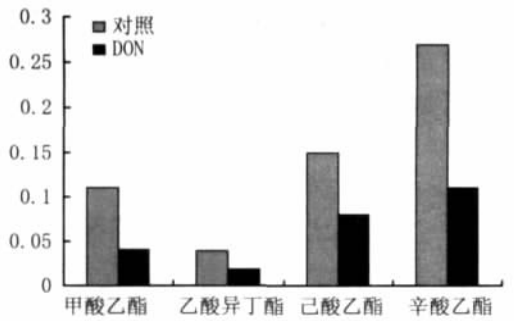


图8 DON对其他酯的影响

发酵过程中, DON能够使高级醇的含量增加, 使酯的含量降低, 导致醇酯比升高。在正常情况下, 酯类总量与高级醇总量要相互协调。如高级醇相对含量较高, 则口味不协调, 啤酒就有一种玫瑰芳香味, 若比例过小, 酯类相对比例高, 啤酒易出现酯香味, 影响啤酒的风味。根据研究表明, 在发酵成熟后, 醇酯比应控制在 3.5~4.5 范围内, 才能保证酒体的醇酯比在 4.0~5.0 范围内, 酒体协调性比较好。而本实验证明, DON能够使醇酯比升高, 达到 6.29, 超过了正常范围值, 导致啤酒风味质量的一致性和均一性的改变。

### 3 结论

\*\*\*\*\*

## 中国白酒专家阈值测定会议纪要

本刊讯 2009年3月24日~28日, 由中国酿酒工业协会白酒分会和江南大学生物工程学院组织的中国“白酒169计划”专家阈值测定会议在江南大学生物工程学院正式召开, 会议为期5天。会议由白酒分会副秘书长宋书玉主持, 江南大学校长助理徐岩到会指导工作, 江南大学生物工程学院副研究员范文来讲解白酒阈值测定方法及注意事项。来自全国各地的34名国家评委参加了此次测定会。

中国酿酒工业协会白酒分会副秘书长宋书玉表示, “白酒169计划”是建国以来白酒行业规模最大的一次科研项目, 阈值的研究是其中的一个重要组成部分, 是中国白酒行业的基础性研究工作, 只有通过中国白酒169计划这样一种组织形式, 才得以实现了我国几代白酒专家的梦想, 更是开启了我国白酒风味研究的新篇章。一直以来, 很多专家学者都在进行阈值的测定工作, 但是由于资金、技术的限制, 使得阈值的研究一直没有很大的突破。近年来, 江南大学不断加强在酿酒领域的技术研究, 目前在阈值方面的研究技术已经十分成熟, 再加上“白酒169计划”项目组成员的鼎力支持, 使得此次的阈值测定的技术水平和设备水平都达到了国际一流, 测量的数据更为准确, 将实现我国白酒领域对阈值研究的一个突破。

另外, 宋书玉表示, 此次的测定会组织的品评人员均是全国白酒界的精英, 有国家白酒评委考试状元、“枝江杯”评酒大赛冠、亚军、曾经担任四届以上的资深国家白酒评委, 还有拥有博士、硕士研究生高等学历的国家白酒评委, 本次测定工作代表了目前白酒阈值研究领域的最高水平。

对于此次会议, 江南大学校长助理徐岩表示: 阈值的测定是感官评价中的一个非常重要的依据, 此次阈值的测定将使我们在白酒生产中对勾调以及风味化合物有一个清醒的认识。同时, 此次会议也创造了我国阈值研究之最: 首先, 规模最大, 是参加人数最多的一次; 其次, 测定化合物最多, 此次试验将对54种化合物进行测试, 而且这些化合物均为白酒生产中的关键化合物; 第三, 是最符合国际标准的一次会议, 此次用于研究的化合物全部采用国外进口, 纯度非常高。第四, 是最精确的一次测定会, 参与测定人员都是具有全国最高品评水平的国家级白酒评酒委员。全部工作完善后, 将按照行业的安排, 根据测定的数据, 拟设立一个白酒阈值测定标准, 并在全国范围推广。

此次阈值测定工作非常成功、圆满, 经过5天测定工作, 在各位评委的共同努力下, 共检测了54个标准品的阈值, 基本确定出这次计划检测的化合物阈值。宋书玉副秘书长指出, 此次阈值测定是一个公益性研究, 不仅是为169白酒计划中的10个白酒企业, 更是为了中国白酒全行业发展的需要。测定实验虽然花费巨大, 但对白酒品评和勾兑技术的发展提供了一个基本的理论基础, 对于中国白酒业的发展将产生深远的影响。

DON在浸麦过程中严重损失, 损失了88.6%, 但是经过5d的发芽, DON含量又有所增加, 烘干对DON的含量影响很小, 糖化过程中DON的含量增加了, 这可能是一些蛋白质释放了一些DON, DON在煮沸的麦汁中非常稳定, 几乎没有损失, 发酵过程中DON也没有损失, 另外, DON会影响大麦的发芽率, 导致产生的酶和麦芽浸出物减少, 库值降低, 粘度增大, 糖化力增大。DON还使麦芽中 $\alpha$ -氨基氮和可溶性氮的含量降低, 从而导致高级醇的含量增加, 使酯的含量降低, 导致醇酯比升高, 影响啤酒的风味。

### 参考文献:

- [1] Dinorah Pan and Federico Bonsignore, Deoxynivalenol in barley samples from Uruguay[J]. Food Micro, 2007, 114: 149-152.
- [2] Charlene E, Wolf-Hall. Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing [J]. Food Micro, 2007, 119: 89-94.
- [3] Schwarz P B, Casper H H. Fate and development of naturally occurring Fusarium mycotoxins during malting and brewing [J]. Am Soc Brew Chem, 1995, 53: 121-127.
- [4] 林志国. 啤酒中高级醇的控制[J]. 酿酒科技, 2001, (2): 55-56.