

高效液相色谱法测定麦汁、发酵液和啤酒中的嘌呤含量

李志良 张五九

(中国食品发酵工业研究院酿酒工程技术研究发展部,北京,100027)

摘要 通过高效液相色谱法测定了不同浓度的麦汁、发酵液及成品啤酒中的嘌呤含量,分析了嘌呤在发酵过程中的变化情况。此外,还分析了不同辅料比的麦汁中嘌呤含量的差异,发酵液中含有酵母与不含有酵母时检测的差异性,以及活性炭吸附对啤酒中嘌呤含量的影响。该研究为开发低嘌呤啤酒提供了可靠的检测方法和研究思路。

关键词 麦汁,发酵液,啤酒,嘌呤,高效液相色谱

啤酒营养丰富,素有“液体面包”之称,其中许多成分都具有保健功能,如电解质、维生素、多肽类、多糖类、多种有机酸、酚类以及酮类物质等。但是,并非人人都适合饮用啤酒,痛风患者则不宜喝啤酒。痛风是一种嘌呤代谢异常而引起的代谢性疾病,是由于嘌呤代谢紊乱引起血清尿酸浓度过高,尿酸结晶沉积于关节、软组织、骨骼、软骨和肾脏等处而引起的疾病。

因此,对酿造过程中嘌呤含量的检测就显得尤为重要,目前还未见到国内有关于啤酒酿造过程中嘌呤含量的检测方法。实验中先对麦汁、发酵液和成品啤酒进行一定的前处理,然后通过高效液相色谱法定性、定量分析腺嘌呤、鸟嘌呤、黄嘌呤和次黄嘌呤的含量。

1 材料与方法

1.1 实验材料

10°P 麦汁,12.5°P 麦汁,10°P 麦汁发酵 6 d 后的发酵液(分为含有酵母和过滤除去酵母 2 部分,以进行对比分析),12.5°P 麦汁发酵 6 d 后的发酵液(同 10°P 发酵液),不同辅料比制备成的麦汁(原浓相同),9°P 成品啤酒和经过活性炭吸附后的啤酒。

1.2 实验仪器与试剂

Waters Alliance 2695 高效液相色谱仪,配置自动进样系统, Waters 2487 双通道紫外检测器, Waters Atlantis d C18 色谱柱(4.6×250 mm,5 μm), Waters Empower 色谱工作站。

试剂:嘌呤标准样品(Sigma 公司,Fluka 公司),甲醇(色谱纯,默克公司),H₃PO₄(优级纯),高氯酸(分析纯),KH₂PO₄(分析纯),KOH(分析纯),超纯水(Milli-Q 超纯水系统制备)。

1.3 高效液相色谱操作条件

色谱操作条件:色谱柱 Waters Atlantis dC18(4.6×250 mm,5 μm),流动相:0.02 mol/L KH₂PO₄ 缓冲液,用 H₃PO₄ 将 pH 调至 4.00^[1],流速 1.0 mL/min,紫外检测器波长 254 nm,进样量 10 μL。

数据由 Waters Empower 色谱工作站进行处理。

1.4 样品的前处理

取过滤清亮的不同浓度的麦汁,以及不同辅料比制备而成的麦汁样品,待进一步处理。

发酵液的处理:将发酵液经滤纸过滤,除去发酵液中含有的酵母,滤液待进一步处理。将过滤后发酵液的实验结果与未经过滤的发酵液进行对比。

啤酒样品经活性炭处理:将 70 g 活性炭置于 350 mL 啤酒中,室温下吸附,不断搅拌以充分混合,将分别混合 20 min、40 min 和 60 min 的啤酒用滤纸过滤,滤液样品待进一步处理,将实验结果与未经处理的啤酒进行对比。

取 10 mL 麦汁(发酵液或啤酒)于 25 mL 具塞试管中,加入 10 mL 高氯酸(HClO₄)溶液^[2],立即置于沸水浴中,在 100℃ 下水解 1 h 后,迅速进行冰浴冷却,溶液以 KOH 溶液调至中性,接着用滤纸滤去大部分沉淀物,将滤液加超纯水定容至 50 mL,再以稀 H₃PO₄ 调节 pH 至 4.00,最后经 0.2 μm 膜过滤,滤液以高效液相色谱仪进行分析。

标样、麦汁和啤酒中 4 种嘌呤的液相分析图谱见图 1、图 2 和图 3。

2 结果与讨论

2.1 麦汁中嘌呤含量的测定

10°P、12.5°P 麦汁中嘌呤含量见表 1,不同辅料比麦汁(浓度相同)中的嘌呤含量见表 2。

第一作者:硕士研究生。

收稿日期:2006-02-22

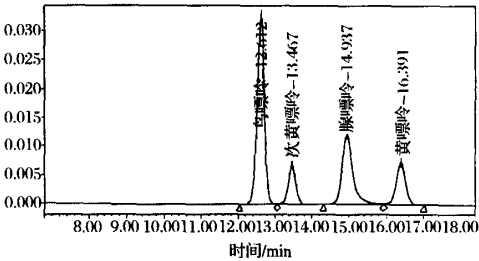


图1 四种嘌呤标样的图谱

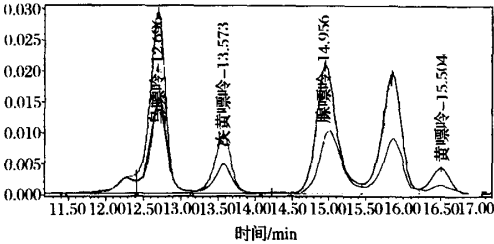


图2 不同辅料比的麦汁中4种嘌呤含量的分析图谱

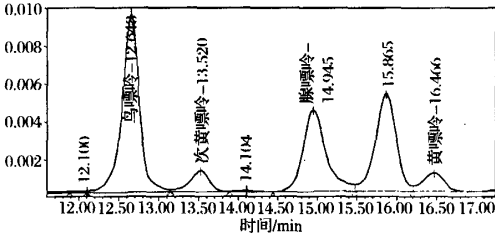


图3 9°P啤酒中4种嘌呤含量的分析图谱

表1 10°P、12.5°P麦汁中嘌呤含量 mg/L

麦汁浓度	鸟嘌呤	次黄嘌呤	腺嘌呤	黄嘌呤	总嘌呤
10°P麦汁	38.99	4.24	27.19	3.92	74.34
12.5°P麦汁	46.02	6.02	33.67	4.78	90.50

表2 不同辅料比的麦汁中嘌呤含量 mg/L

麦汁样品	鸟嘌呤	次黄嘌呤	腺嘌呤	黄嘌呤	总嘌呤
全麦芽麦汁	52.81	18.24	39.71	14.48	125.24
20%辅料麦汁	50.08	16.84	34.27	12.11	113.30
40%辅料麦汁	43.74	14.03	25.95	8.00	91.72
60%辅料麦汁	32.89	9.83	20.17	4.59	67.48

由表1和表2可以看出,麦汁的浓度越高,嘌呤含量就越高;随着辅料(大米)含量的增加,麦汁中各种嘌呤含量逐渐减少,这都说明麦汁的嘌呤含量主要来自于麦芽。麦芽中一般含有0.2%~0.3%的核酸类物质,在糖化时,受各种磷酸酯酶的作用降解成核苷酸、核苷、嘌呤和嘧啶等多种降解物^[3]。

2.2 发酵液中嘌呤含量的测定

10°P、12.5°P, 6 d 发酵液中嘌呤含量的分析情况见表3,其中分为含酵母的发酵液和经过过滤除去酵母的发酵液中嘌呤含量的对比分析,考察发酵液中

的酵母对发酵液中嘌呤含量测定的影响;分析2种不同浓度的麦汁在发酵前后4种嘌呤含量的变化情况,见表4。

表3 发酵液中嘌呤含量 mg/L

发酵液类型	鸟嘌呤	次黄嘌呤	腺嘌呤	黄嘌呤	总嘌呤
原液 10°P 发酵液(未过滤)	36.61	4.82	18.04	4.71	64.18
原液 10°P 发酵液(过滤)	32.20	4.62	15.63	4.34	56.79
原液 12.5°P 发酵液(未过滤)	45.08	4.60	25.04	6.10	80.83
原液 12.5°P 发酵液(过滤)	36.41	4.98	18.40	5.63	65.42

由表3可知,发酵液中是否含有酵母对发酵液中嘌呤含量的测定影响较大,当过滤除去酵母后,原液10°P的发酵液嘌呤含量减少了7.39 mg/L,原液12.5°P的发酵液嘌呤含量减少了15.41 mg/L。这就说明在检测发酵液中嘌呤含量时,应该先除去发酵液中的酵母,因为在进行样品前处理时,强酸也会将酵母内的核酸类物质水解成嘌呤,这样就会影响到发酵液中真实的嘌呤含量,对实验结果造成一定的误差。

表4 发酵过程中嘌呤含量的变化情况 mg/L

样品名称	10°P 麦汁	10°P 滤后 发酵液	12.5°P 麦汁	12.5°P 滤后 发酵液
总嘌呤含量	74.34	56.79	90.50	65.42
差值		17.55		25.08

由表4可知,在发酵期间嘌呤含量有所降低,这是因为部分嘌呤类物质被酵母细胞吸收,构成合成新酵母细胞所需的核糖核酸、脱氧核糖核酸、三磷酸腺苷和某些辅酶等物质。

2.3 活性炭吸附对啤酒中嘌呤含量的影响

以9°P啤酒进行实验,经过不同吸附程度的啤酒中嘌呤含量的对比分析情况见表5。

表5 活性炭吸附对啤酒中嘌呤含量的影响 mg/L

啤酒样品	鸟嘌呤	次黄嘌呤	腺嘌呤	黄嘌呤	总嘌呤
未经吸附啤酒	29.60	3.39	13.94	4.40	51.32
活性炭吸附 20min	29.47	3.33	11.27	3.29	47.36
活性炭吸附 40min	28.33	2.95	10.27	2.82	44.36
活性炭吸附 60min	29.21	3.42	9.92	2.56	45.12

由表5可知,活性炭对啤酒中的嘌呤含量具有一定的吸附作用,而且对腺嘌呤和黄嘌呤的吸附作用要大于鸟嘌呤和次黄嘌呤,在活性炭吸附40 min后基本上就达到了最佳的吸附效果,比未经处理的啤酒减少了6.96 mg/L。但是经过活性炭吸附后的啤酒色度降低,而且影响啤酒的泡沫、口感和风味,这都对啤酒的质量造成了一定的负面影响。但是,本实验结果也证明,啤酒中嘌呤含量存在降低的可能性的,关键

在于选择合适的吸附剂进行啤酒的后处理,既能减少啤酒中嘌呤的含量,又不至于影响啤酒的质量。

据文献报道^[4],几丁聚糖可吸附啤酒中的嘌呤至,使其含量降至 20 mg/L 左右,而且对啤酒的质量影响相对较小。但是,这种吸附剂由于一些不利因素(如费用较高,工业化实施存在一定的技术难点等)也只是局限于实验室规模进行实验,还没有应用到实际大生产中。

3 结 论

通过采用高效液相色谱法对麦汁、发酵液和啤酒中嘌呤含量的测定及对实验结果的分析,主要得出了以下结论:

(1)麦汁中的嘌呤主要来自于麦芽;在发酵期间嘌呤含量有所降低,这是因为嘌呤会进入酵母细胞,构成核糖核酸、脱氧核糖核酸、三磷酸腺苷和某些辅酶。

(2)发酵液中的酵母对发酵液中嘌呤含量的测定有影响,总嘌呤含量会增加,这是因为在进行样品前处理时,强酸也会将酵母内的核酸类物质水解成嘌呤。因此,在检测发酵液中的嘌呤含量时,应先除去发酵液中的酵母,然后再进行样品的前处理。

(3)活性炭对腺嘌呤和黄嘌呤的吸附效果要好于

对鸟嘌呤和次黄嘌呤的吸附效果,吸附 40 min 后即达到最佳吸附效果。这说明经过一定的后处理可减少啤酒中的嘌呤含量。但是,活性炭吸附后会对啤酒质量产生一定的负面影响。

(4)在开发低嘌呤啤酒时,首要考虑的就是要采用高辅料比酿造技术,用糖浆或一定量的谷物作为部分麦芽的代替物来酿造啤酒,以减少啤酒中核酸类物质的浓度;其次是采用合理的后处理工艺,如高浓稀释工艺可相对降低单位体积啤酒中的嘌呤含量,以及选择合适的吸附剂,既能减少啤酒中嘌呤的含量,又能保证啤酒的质量。

参 考 文 献

- 1 Lou S N, Chen T Y. Studies on the analytical method of the purine contents in fishery products[J]. Food Science, 1997, 24(1):1~11
- 2 Jou J H, Ker K C. The investigation of analytical method of purine content in high purine foods[J]. Nutr Sci J, 1999, 24(4):366~378
- 3 管敦仪. 啤酒工业手册(修订版)[M]. 北京:中国轻工业出版社,1998
- 4 黄智铭. 几丁聚糖吸附啤酒中嘌呤之研究[D]. 台湾:国立成功大学化学研究所硕士论文,2002

Determination of Purine in Wort, Fermenting Liquor and Beer by HPLC

Li Zhiliang Zhang Wujia

(China National Research Institute of Food and Fermentation Industries, Beijing 100027, China)

ABSTRACT In this paper, the four purines in wort, fermenting liquor and beer were determined by HPLC, and the change of purines in fermentation process was analyzed. Furthermore, the differences of four purines content in wort made with different rice content was analyzed. The influences of yeast on four purines content in fermenting liquor was summarized, and the effect of adsorption of activated carbon on four purines in beer was also analyzed. The research in this paper offered a reliable analytical method and the researching direction of low-purine beers.

Key words wort, fermenting liquor, beer, purine, HPLC

信 息 窗

日本开发出提升米饭香味的风味改良剂

日本 MC 食品技术开发公司利用天然材料开发出 2 种可提高米饭香味的风味改良剂。这种新型米饭风味改良剂——“穗之光”,用于盒饭微波加热时可提升和改善米饭香味。

由于米饭盒饭主要使用醋酸作为品质保持用的添加剂,而醋酸味有损米饭香味和风味,此前通常使用屏蔽剂抑制醋酸味,但屏蔽剂对米饭香味也有影响。据介绍,使用“穗之光”风味改良剂既可以保持稻米固有的香味和风味,同时也可以抑制醋酸味。其添加量为生米的 0.5%~1.0%。风味改良剂“穗之光”是改善用陈米和混合米制成的米饭或米饭冷却后微波加热时的米饭香味用制剂。主要以外卖食品为其销售目标。