

啤酒中戊聚糖的测定——地衣酚-盐酸法

李胤 陆健 顾国贤

(江南大学生物工程学院 教育部工业生物技术重点实验室 无锡 214036)

摘 要 研究了地衣酚-盐酸法测定啤酒及麦汁中的戊聚糖,探讨了实验条件,建立了以双波长吸光度差值的方法测定啤酒和麦汁中的戊聚糖。当参加反应的 3.0 mL 的溶液中木糖的含量为 0~200 μg 时,反应液吸光度的变化符合比摩尔定律,标样的回收率在 91.9%~106.9% 之间。用此法测得的市售啤酒中戊聚糖含量在 906~2 121 mg/L 之间。

关键词 啤酒,戊聚糖,地衣酚-盐酸法

大麦中的非淀粉质多糖(non-starch polysaccharides,简称 NSP)主要由 β -葡聚糖和戊聚糖组成,其中大麦胚乳细胞壁的 NSP 由 75% 的 β -葡聚糖和 20% 的阿拉伯木聚糖构成。 β -葡聚糖对制麦和酿造的影响已得到了啤酒工业的重视,而对谷物细胞壁的另一重要部分戊聚糖,人们的研究却很少^[1]。

戊聚糖的基本结构是以(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃木糖残基为线性骨干,通过 O-2, O-3 或 O-2,3 键联上 α -L-阿拉伯呋喃取代物。有报道,阿拉伯木聚糖在与能产生自由基的化合物共存时,分子内部广泛交联,形成错综复杂的网状结构,导致麦汁的粘度增高,给过滤带来困难,而另一方面,阿拉伯木聚糖又能增加啤酒的口感并提高泡沫的稳定性。因此,对啤酒中的阿拉伯木聚糖的研究是当前酿造者面对的一个重要课题。首先要解决的就是啤酒中阿拉伯木聚糖的测定。

戊聚糖的常规分析方法有色谱法和比色法。色谱法:样品首先被水解成单糖形式,经过还原和酯化,生成能气化的糖腈的衍生物,而后通过色谱分析,其含量为阿拉伯糖和木糖的和。此法较为精确,但制备工艺复杂,费时费力,而且很大程度上受到仪器的影响。比色法:戊聚糖被热酸水解成糠醛,再与地衣酚反应,由吸光度根据标准曲线计算戊聚糖

含量^[2]。此法具有快捷、简便的特点。文中着重对地衣酚-盐酸法测定啤酒和麦汁中的戊聚糖进行了研究,确定了采用比色法测定戊聚糖的具体条件和操作步骤,为广大啤酒生产企业提供了一种快速简便测定戊聚糖的方法。

1 实验部分

1.1 仪 器

754 分光光度计。

1.2 试 剂

D-木糖(日本,和光纯药),地衣酚(British Drug Houses LTD)。

浓 HCl, FeCl₃, 无水乙醇(AR)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准曲线的绘制

取 6 组试管,空白为 1 只,其余为 2 只平行管,配制 40、80、120、160、200 μg /mL 标准木糖溶液,分别取 1 mL 标准液加 2.0 mL 蒸馏水,再加入 0.1% 的 FeCl₃(溶于浓 HCl)和 0.3 mL 的 1% 地衣酚(溶于无水乙醇),100℃ 下作用 30 min,用 1.0 cm 的比色杯,于 580 nm 和 670 nm 波长下测定吸光度,用双波长吸光度差值法作标准曲线。

1.3.2 样品分析^[3,4]

吸取 1 mL 啤酒或麦汁在沸水浴中经

第一作者:博士研究生。

改回时间:2003-05-20

HCl 水解 2 h, 适当稀释后取 1 mL 于具塞试管中, 依次添加 2.0 mL 蒸馏水, 3.0 mL 0.1% 的 FeCl_3 溶液(溶于浓 HCl), 0.3 mL 1% 的地衣酚溶液(溶于无水乙醇), 沸水浴中反应 30 min, 以 3.0 mL 蒸馏水代替样品做空白, 测定吸光度, 根据标准曲线可得样品中戊聚糖的含量。

2 结果与讨论

2.1 实验条件的确定

2.1.1 最大吸收波长

按实验方法测试试剂及反应液的吸收光谱及差谱, 在 580 nm 和 670 nm 处有最大差谱, 采用双波长吸光度法。吸收光谱和差谱分别见图 1 和图 2。

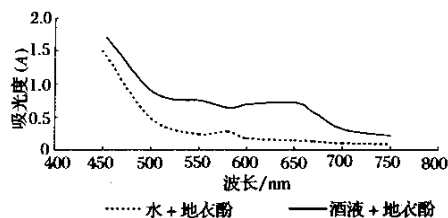


图 1 不同波长下的吸收曲线

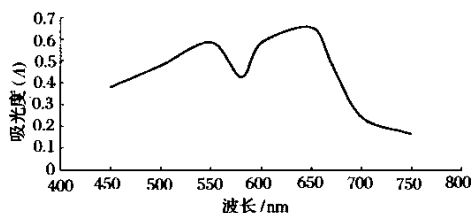


图 2 差谱

2.1.2 水解条件的选择

2.1.2.1 水解酸的选择

水解多糖的酸有: HCl, H_2SO_4 和三氟乙酸。 H_2SO_4 主要用于水解中性糖; 三氟乙酸可用于植物细胞壁多糖、糖蛋白和糖胺聚糖的水解, 而 HCl 则用于糖蛋白和氨基脱氧的多糖水解。

按实验方法, 以不同的酸为水解酸, 测定酸对测定结果的影响。

从表 1 可知, 以 HCl 为水解酸, 测得的戊聚糖含量较高, 因此选择 HCl 水解啤酒和

麦汁。

表 1 不同水解酸对戊聚糖测定的影响

(相对百分比)

	HCl/%	三氟乙酸/%	H_2SO_4 /%
啤酒	100	92.2	87.1
麦汁	100	90.8	89.2

2.1.2.2 水解酸浓度的选择

按实验方法, 以 HCl 为水解酸, 测定了不同浓度的 HCl 水解对测定结果的影响。根据表 2 选择 4 mol/L 的 HCl。

表 2 HCl 浓度对戊聚糖测定的影响

HCl 浓度/mol·L ⁻¹	戊聚糖/mg·L ⁻¹
0.5	1787
1	1886
2	2374
3	2485
4	2656
5	2533

2.1.2.3 水解时间的选择

按实验方法, 以 4 mol/L HCl 为水解酸, 测定水解时间对测定结果的影响(表 3)。

表 3 水解时间对回收率的影响

水解时间/min	戊聚糖/mg·L ⁻¹
30	1579
60	1856
90	2105
120	2656
150	2630

从表 3 看出, 水解时间对测定结果的影响较大, 水解 30 min 测得的戊聚糖含量只相当于水解 120 min 的 60%。水解经过 120 min 后, 测定结果变化不大, 所以选择水解时间为 120 min。

2.1.3 显色反应时间的选择

按实验方法, 测定了水解液发生显色反应 5 ~ 40 min 内吸光度的变化, 得到戊聚糖相对含量(如表 4 所示), 确定显色反应时间为 30 min。

2.1.4 被测样品的添加量对测定结果的影响

将啤酒稀释 10 倍, 吸取 0.1 ~ 1.0 mL,

加蒸馏水至 3.0 mL,按实验方法测定吸光度。将麦汁稀释 20 倍,吸取 0.1 ~ 1.5 mL,加蒸馏水至 3.0 mL,按实验方法测定吸光度。结果见图 3 和图 4。

表 4 显色反应时间对戊聚糖测定的影响

显色反应时间/min	戊聚糖相对百分含量/%
5	5.1
10	22.1
15	49.6
20	72.8
30	100.0
40	97.8

由图 3 可知,稀释 10 倍的啤酒取 0.5 mL 时所测得戊聚糖相对含量最高,即相当于啤酒水解液稀释 20 倍取 1 mL 参与显色反应。

由图 4 可知,稀释 20 倍的麦汁取 0.5 mL 时所测得戊聚糖相对含量最高,即相当于麦汁水解液稀释 40 倍取 1 mL 参与显色反应。

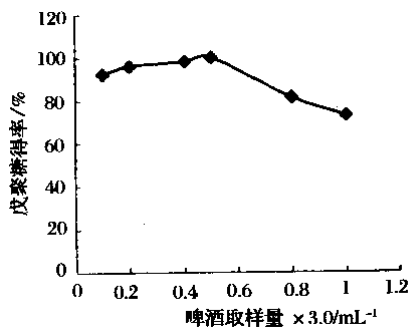


图 3 啤酒取样量对戊聚糖回收率的影响

根据以上讨论,啤酒和麦汁中戊聚糖的

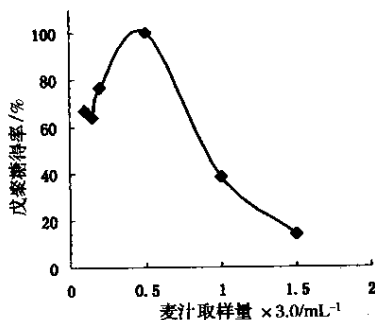


图 4 麦汁取样量对戊聚糖回收率的影响

测定方法具体如下:吸取啤酒(麦汁)1 mL 加入 4 mol/L HCl 1 mL 沸水浴水解 2 h,稀释 20(40)倍后取 1 mL 于具塞试管中,依次添加 2.0 mL 蒸馏水,3.0 mL 0.1% 的 FeCl_3 (溶于浓盐酸),0.3 mL 1% 的地衣酚溶液(溶于无水乙醇),沸水浴中反应 30 min,以 3.0 mL 蒸馏水代替样品做空白,分别在 670 nm 和 580 nm 下测定吸光度,根据标准曲线可知样品中的戊聚糖含量。

2.2 回收率的测定

将啤酒稀释 20 倍,取 1 mL 啤酒待测样品,依次加入木糖标样和蒸馏水,按实验方法,测定标样,得回收率在 96.7% ~ 106.9%。

将麦汁稀释 40 倍,取 1 mL 麦汁待测样品,依次加入木糖标样和蒸馏水,按实验方法,测定标样,得回收率在 91.9% ~ 104.2%。

2.3 戊聚糖的计算

啤酒(或麦汁)中的戊聚糖含量计算公式如下:

$$\text{戊聚糖含量 (mg/L)} = [(A_{670} - A_{580} - b) / a] \times n \times 0.88$$

式中: a, b 为常数(由标准曲线的回归方程所得); n 为稀释倍数; A_{670}, A_{580} 分别为样品在 670 nm 和 580 nm 处的吸收值, 0.88 为聚合系数。

2.4 样品分析结果

表 5 市售啤酒中的戊聚糖和 β -葡聚糖含量^[5]

酒样(浓度)	戊聚糖 /mg·L ⁻¹	β -葡聚糖 /mg·L ⁻¹	粘度 /mPa·s
青岛啤酒(11°)	1030	310	1.561
燕京王(11°)	1311	55.2	1.480
百威(11°)	1373	40.3	1.493
力波(12°)	1584	79.1	1.531
大富豪三宝乐(11°)	1487	162.7	1.563
圣泉圣力(9°)	906	80.9	1.462
天目湖(8°)	977	70.1	1.375
三得利(11°)	1206	168.7	1.487
荷兰喜力(11.5°)	2121	317.9	1.569

3 讨 论

利用地衣酚-盐酸法测定啤酒和麦汁中的戊聚糖的含量。该方法的原理是利用戊糖在高温浓酸作用下生成糠醛,糠醛又与含苯的化合物地衣酚反应生成有色的化合物,通过测定吸光度对戊糖含量做定量分析。有研究表明,在地衣酚-盐酸法中,大量己糖的存在会干扰戊糖的准确测定,当葡萄糖的浓度超过木糖的 5 倍以上,就有必要除去体系中的葡萄糖。啤酒是一个复杂体系,葡萄糖及水解后形成己糖的麦芽糖、麦芽二糖、三糖、四糖的量远远大于戊糖。木糖和阿拉伯糖在 670 nm 处有明显的吸收峰,低浓度的己糖在 400 ~ 700 nm 下没有明显的吸收峰,而高浓度的葡萄糖在 400 ~ 700 nm 波长范围内的吸光度大大增加。因此,本法采用双波长(670, 580 nm)下吸光度的差值来消除葡萄糖的干扰。

本法具有易操作,试剂易得,快速简便的特点,用本法测定的 9 种市售啤酒中的戊聚糖含量在 906 ~ 2 121 mg/L,相应的 β -葡聚糖含量在 40.3 ~ 317.9 mg/L,可以看出,啤酒中戊聚糖的含量明显高于 β -葡聚糖。过去通常认为麦汁粘度过高是由 β -葡聚糖造成的,近来更多的研究表明戊聚糖液起了相当重要的作用,而且阿魏酸残基的氧化偶联,引起戊聚糖内部分子间广泛交联,使粘度增加^[6]。

参 考 文 献

- 1 Henry R J. Journal of Cereal Science, 1986 4 269 ~ 277
- 2 Delcour J A, Vanhamel S. Cereal Chem, 1989 66 : 107 ~ 111
- 3 Hashimoto S, Shogren M D, Pomeranz Y. Cereal Chem, 1986 64 30 ~ 34
- 4 Hashimoto S, Shogren M D. Cereal Chem, 1986, 64 39 ~ 41
- 5 李永仙,尹象胜等. 无锡轻工大学学报, 1997, 16 8 ~ 13
- 6 李胤,陆健,顾国贤. 酿酒, 2002 6 59 ~ 61

Orcinol Hydrochloric Acid Method for Determination of Pentosans in Beer

Li Yin Lu Jian Gu Guoxian

(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education Southern Yangtze University, Wuxi 214036)

ABSTRACT The orcinol hydrochloric acid method for determination of pentosans in beer and wort was studied in this paper. By discussing different conditions, we established a method for determination of pentosans by the absorbance difference between 670 and 580 nm. 3.0 mL of solution mixed with orcinol hydrochloric acid forms a colored complex system, which goes in agree with Beer's law. The recovery rate by using this method was within 91.9% ~ 106.9%. Pentosans content in beer ranged from 906 mg/L to 2 121 mg/L.

Key words beer, pentosans, orcinol hydrochloric acid method

纯香蕉果汁的生产技术在法国问世

最近,一名法国的研究人员提出一种新的商业性生产纯香蕉果汁的技术(迄今市场上还没有纯香蕉果汁的软饮料产品)。市场上现售的香蕉饮料含 25% 的果肉,其余的是水和食用糖。此项技术的关键就是将香蕉的果肉加热到 90 ~ 95℃,然后突然降低压强以破坏果肉中的植物细胞,便于果汁回收。这种只含 100% 的香蕉却不添加水和糖的果汁保留了香蕉的口味、色泽和所有的营养成分,是一种高附加值的新型产品。它被定位为健康饮品,目标消费群是儿童和运动员。位于瓜德洛浦的一家公司——罗克普兰声称投资约 100 万英镑,生产这种纯香蕉果汁。他们将选用因外皮有瑕疵而不能出口的香蕉为原料,于 2004 年年底投产,每年的产量约 500 万 L。对欧洲尤其是法国和德国的市场调查显示,该地区是此类果汁最好的销售市场。