

УДК 663.41

Влияние режима затираания солода на содержание транс-2-ноненала в пиве

Баташов Б.Э., Дедегкаев А.Т. A.T.ded@spb.baltika.ru, Афонин Д.В.

Санкт-Петербургский государственный университет
низкотемпературных и пищевых технологий

В процессе получения и хранения пива происходит окисление жирных кислот, содержащихся в сусле и пиве, с образованием транс-2-ноненала, который отрицательно влияет на сенсорные характеристики пива. Этот процесс можно регулировать на этапе затираания. Наилучшие результаты получены в том случае, когда подкисляют затор и промывные воды, а сам процесс начинают при температуре 65 °С.

Ключевые слова: транс-2-ноненаль, затираание, вкус, стабильность

Mashing influence on trans-2-nonenal in beer

Batashov B., Dedegkaev A., Afonin D..

Saint-Petersburg state university of refrigeration and food
engineering

During brewing and storing of beer fatty acids are oxidized with the formation of trans-2-nonenal, which negatively affects the sensory characteristics of beer. This process can be regulated at the stage of mashing. The best results were obtained when the acidified mash and rinse water, and the process start at 65 ° C.

Key words: trans-2-nonenal, mashing, flavor , stability

Индикаторами состарившегося пива являются предельные алифатические альдегиды 2-метилбутаналь и 3-метилбутаналь, непредельный алифатический альдегид транс-2-ноненаль, ароматические альдегиды бензальдегид и 2-фенилэтаналь, гетероциклические альдегиды 2-фурфурол и 5-метилфурфурол и

целый ряд других соединений. Все они представляют собой нежелательными компонентами пива. Эти соединения образуются в результате окислительных процессов, происходящих в пиве при его хранении. Так, алифатические альдегиды синтезируются из аминокислот в результате протекания реакции Штрекера. Катализаторами процесса являются оксиды железа и меди, а также радикальные формы кислорода. При участии радикалов кислорода синтезируются промежуточные продукты реакции Майяра – фурфурол и 5-метилфурфурол. Радикальную природу имеют реакции окисления витаминов, α -горьких и изо- α -горьких кислот, а также ненасыщенных жирных кислот (ННЖК), в результате которого образуется транс-2-ноненаль, который уже при концентрации выше 0,11 мкг/л придает пиву бумажный, картонный запах и привкус [1].

Транс-2-ноненаль относится к алифатическим ненасыщенным альдегидам. Его синтез связан с липидным обменом в зерне и превращением жирных кислот в ходе технологического процесса производства пива. Синтез транс-2-ноненала может происходить как ферментативным, так и неферментативным путем при авто- и фотоокислении жирных кислот.

Ферментативный путь образования транс-2-ноненала

Ферментативный путь образования транс-2-ноненала предполагает участие таких ферментов как липаза и липоксигеназа.

Липаза или триацилглицероллипаза (КФ 3.1.1.3) относится к эстеразам (класс гидролаз), которые расщепляют эфирные связи. Этот фермент гидролизует высокомолекулярные глицериновые эфиры жирных кислот с образованием ди-, моноглицеридов и жирных кислот. Липазная активность выявляется в основном в зародыше (2/3 активности) ячменя, а также в его алейроновом слое. В процессе солодоращения активность фермента возрастает более чем в 2 раза по сравнению с его активностью в ячмене. При сушке солода липазная активность изменяется незначительно и составляет 86-92% от ее активности в свежепроросшем солоде.

Липазы ячменя имеют два пика активности при 35⁰С и 65⁰С. При затирании наиболее благоприятными условиями для проявления липазной активности является температура 35-40⁰С. Инактивация фермента наступает при температуре более 70⁰С.

В результате действия липазы значительно уменьшается доля триглицеридов в сусле по сравнению с зерном и увеличивается содержание высокомолекулярных свободных жирных кислот. Образовавшиеся в результате гидролиза триглицеридов жирные кислоты склонны к

ферментативному и радикальному окислению. В качестве индикатора ферментативного окисления липидов выступает липоксигеназа.

Липоксигеназа (КФ 1.13.11.12) относится к ферментам класса оксидоредуктаз. К этому классу ферментов относятся также каталаза, пероксидаза и полифенолоксидаза. Липоксигеназа окисляет ненасыщенные жирные кислоты в соответствующие гидропероксиды.

Известны две формы липоксигеназы - липоксигеназа 1 (LOX 1) и липоксигеназа 2 (LOX 2). В непророщенном ячмене в активной форме находится липоксигеназа 1 (LOX 1). В процессе солодоращения образуется липоксигеназа 2. Липоксигеназная активность, которая обнаруживается в листке и корешке, продолжает повышаться при подвяливании зеленого солода (1 этап сушки). Однако, во время протекания второго этапа сушки (отсушки) происходят значительные изменения в активности фермента. При температуре отсушки 80-85°C, т.е. именно той температуре, которая необходима для получения светлого солода, липоксигеназная активность падает до уровня активности в ячмене. Дальнейшее повышение температуры приводит к значительной инактивации фермента, поэтому в темном солоде активность липоксигеназ приближается к нулю. Активность липоксигеназ в солоде, полученном из ярового ячменя, примерно в 2 раза больше, чем из озимого [3].

Активность липоксигеназы, как и любого другого фермента, зависит от температуры и pH. Это следует учитывать при затирании. Оптимальными условиями для действия ферментов являются температура 35-50°C и величина pH 5,2- 5,3, инактивация фермента наступает при температуре выше 65°C. При повышении температуры затора (выше 65°C) или при снижении pH до 5,1 активность липоксигеназы можно значительно понизить. Показано, что при pH 5,1 активность фермента приближается к 0, что положительно сказывается на вкусовой стабильности пива [1,3]. Во время затирания под действием липоксигеназы солода, а также ячменя, если он используется в качестве несоложенного материала, в присутствии кислорода воздуха жирные кислоты, и в частности линолевая и линоленовая кислоты превращаются в - 9 (9-LnOOH) или 13 (13-LnOOH) –линолгидроксипероксиды. Образовавшиеся гидропероксиды далее распадаются на различных стадиях производства с образованием карбониллов. Если это происходит перед брожением или во время его, то дрожжи восстанавливают карбонилы в соответствующие спирты. Если гидроксили кислоты распадаются после брожения, то образовавшиеся карбонилы остаются в пиве и ухудшают его вкус, однако старение пива в результате этих превращений не столь значимо.

Увеличение концентрации транс-2 –ноненаля в сусле может быть связано с протеканием 2-х биосинтетических процессов.

Первый процесс. Благодаря действию липазы происходит распад триглицеридов на свободные ненасыщенные жирные кислоты (линоленовую и линоленовую) и глицерин. Свободные ненасыщенные жирные кислоты (НЖК) при участии липоксигеназы (LOX1 и (или) LOX 2) окисляются до гидропероксидов жирных кислот, которые являются прекурсорами в синтезе транс-2 –ноненаля.

Второй процесс. В начале, при участии LOX 2 из липидов образуются липидгидропероксиды, которые расщепляются липазой до гидропероксидов жирных кислот, и далее процесс идет также, как в первом случае. Следовательно, общим исходным метаболитом в обоих направлениях реакций являются гидропероксиды жирных кислот.

Образование транс-2-ноненаля в результате неферментативного окисления жирных кислот

Окисление компонентов пива может происходить как ферментативным, так и неферментативным путем. Кроме того этот процесс может идти и без участия кислорода. Окисление жирных кислот может происходить также и без участия липаз под действием света, теплоты и ионов металлов. Начальным продуктом окисления являются гидропероксиды солода, затем в процессе затирания образуются производные гидропероксидов, которые превращаются в тригидропероксидные кислоты, а последние, в процессе хранения пива, превращаются в транс-2-ноненал.

Автоокисление

Ненасыщенные жирные кислоты (НЖК) попадают в пиво с солодом. При затирании их количество увеличивается за счет действия липаз. В связи с тем, что НЖК находятся не в растворенной форме, а в диспергированной, их содержание значительно снижается с удалением белковых взвесей. Тем не менее НЖК, а также образовавшиеся в результате брожения их этиловые эфиры, остаются в пиве и окисляются.

Автоокисление НЖК протекает по радикальному механизму. При этом радикал, главным образом пероксид, отщепляет атом водорода от молекулы жирной кислоты, вновь возникший радикал в свою очередь реагирует с молекулярным невозбужденным (триплетным) кислородом с образованием радикала пероксида, который отщепляет атом водорода у следующей молекулы НЖК и трансформируется в результате в гидропероксид жирной кислоты.

В результате атаки радикалов образуется серия гидропероксижирных кислот, в частности, 9 (9-LnOOH) или 13 (13-LnOOH) – линолгидроксипероксид, и новые радикалы. Гидропероксиды в свою очередь

под действием внешних факторов (температура, свет, катализаторы) расщепляются до карбонильных соединений и кислот. Ионы тяжелых металлов, в частности железа и меди, оказывают каталитическое действие, этому способствует низкая величина рН, повышенная температура и наличие кислорода.

Фотоокисление

В отличие от автоокисления возбужденный при воздействии света синглетный кислород реагирует с НЖК с образованием гидропероксидов или альдегидов различной степени ненасыщенности. Реакция с синглетным кислородом протекает намного быстрее, чем с триплетным. Так, при фотоокислении линолевой кислоты скорость процесса образования транс-2-ноненала в 1500 раз выше, чем при автоокислении, причем скорость протекания этих реакций зависит как от количества кислорода в пиве, так и от наличия возбужденных светом сенсбилизаторов, например таких как рибофлавин (В₂).

Таким образом не зависимо от механизмов образования транс-2-ноненала (ферментативное окисления, автоокисление или фотоокисление НЖК) необходимо добиться как можно меньшего образования жирных кислот на стадии получения суслу, создав неблагоприятные условия для действия ферментов липаз и липоксигеназ, а также замедлить процессы окисления на протяжении всего технологического процесса производства и при хранении пива.

Целью исследований являлось изучение влияния режимов затираания солода на содержание транс-2-ноненала в свежем пиве и в пиве после хранения. Для этого создавали условия, препятствующие образованию и окислению жирных кислот.

Первый режим (контрольный вариант) представлял собой классический способ затираания, который начинается при температуре 52 °С.

Во втором режиме с помощью молочной кислоты рН промывных вод снижали до значения 5,1, при котором резко уменьшается активность липоксигеназы.

В третьем варианте опыта в затор добавляли галлотаннин, действие которого заключается в осаждении из суслу белков, увлекающих за собой жирные кислоты. Использовали галлотаннин (100%) под торговой маркой Brewtan (Брютан) бельгийской фирмы ОтпиНет. Препарат взаимодействует с содержащими SH-группы кислыми белками при рН ниже 5,6 и осаждает их.

В четвертом режиме рН промывных вод понижали с помощью ортофосфорной кислоты.

При реализации пятого опыта в сусло добавляли антиоксидант метобисульфит калия, который должен препятствовать окислению липидов.

В шестом режиме затирание начинали при температуре 65 °С. При этой температуре снижается активность липазы и липоксигеназы, а также уменьшается растворимость кислорода в сусле. Кроме того, длительность паузы в вирпуле уменьшали до 10 мин.

За исключением шестого режима, в котором было изменено время пребывания охмеленного сусла в вирпуле, все последующие операции, начиная с фильтрации затора, во всех случаях проходили в идентичных условиях:

- фильтрацию затора осуществляли в суслосборник в течение 90–100 мин;
- поступление сусла из суслосборника в суслотарочный котел проходило через нагреватель. В этот промежуток времени сусло нагревали горячей водой до температуры 93–95 °С;
- кипячение сусла с хмелем проводили при умеренном избыточном давлении с помощью внутреннего кипятильника в течение 60–70 мин;
- отстаивание охмеленного сусла в вирпуле длилось в течение 20 мин (в шестом режиме опыта – 10 мин);
- сусло охлаждали до температуры 11 °С и аэрировали;
- брожение проходило в ЦКТ (цилиндрических танках) при температуре 14 °С в течение 4 сут, затем с целью восстановления диацетила процесс продолжали при 14–12 °С в течение 4–5 сут, после чего пиво охлаждали до 0–2 °С в течение 2 сут и далее выдерживали при 0 °С в течение 4–6 сут (холодная стабилизация);
- далее пиво фильтровали, пастеризовали при 28 ПЕ (единицы Пастера) и разливали в бутылки.

Содержание транс-2-ноненаля в пиве оценивали при помощи газовой хроматографии. Альдегиды разделялись в хроматографической колонке. Количественное содержание анализируемых компонентов определяли по величине площади соответствующих им хроматографических пиков с учетом предварительно проведенной градуировки методом внутреннего стандарта.

В работе использовали метод форсированного старения пива. Старение пива производилось путем выдерживания образцов пива сначала в течение 7 сут при температуре 0 °С и последующим выдерживанием в течение 7 сут при температуре 38 °С [2]. Результаты эксперимента приведены в таблице.

Таблица.

Влияние режима затириания на концентрацию транс-2-ноненаля в пиве

Режим затириания, №№	Концентрация транс-2-ноненаля, мкг/л	
	В свежем пиве	Состаренном пиве
1	0,05	0,13
2	0,09	0,14
3	0,07	0,12
4	0,05	0,22
5	0,06	0,15
6	0,08	0,10

Анализируя данные опытов, можно сделать вывод о том, что для повышения вкусовой стабильности пива, а именно снижения в нем содержания альдегида старения транс-2-ноненаля, эффективнее всего создавать неблагоприятные условия для окисления липидов путем проведения затириания при температуре 65 °С и выше и уменьшения паузы в вирпуге до 10 мин (шестой режим затириания). После применения данной технологии содержание транс-2-ноненаля в состаренном образце ниже порога чувствительности (>0,11 мкг/л).

Список литературы

1. Меледина Т.В., Дедегкаев А.Т., Афонин Д.В.//Качество пива. Стабильность вкуса и аромата. Коллоидная стойкость. Дегустация. – СПб.: «Профессия». – 2011. – 220 с.
2. Меледина Т.В.// Сырье и вспомогательные материалы в пивоварении. - СПб.: «Профессия». – 2003. – 304 с.
3. Нарцисс Л. //Технология солодоращения. – СПб.: «Профессия». 2007. – С. 400-404.