

青稞红曲啤酒中 γ -氨基丁酸(GABA)的研究

张荣霞^{1,2}, 李 崎^{1,2}, 朱林江^{1,2}, 刘春风^{1,2}, 李永仙^{*1,2}

(1. 江南大学 教育部工业生物技术重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是一种具有降血压等多种重要生理功能的天然非蛋白质氨基酸,在食品工业中已有广泛应用,但在啤酒工业领域研究较少。对本实验室研究开发的青稞红曲啤酒和市售啤酒进行对比发现,市售啤酒中 GABA 质量浓度范围介于 40~65 mg/L 之间,青稞红曲啤酒中 GABA 质量浓度为 91.3 ± 6.9 mg/L。通过对原料、糖化和发酵工艺的研究可知,糖化过程中 GABA 在糖化初期含量增加,随着糖化的进行,麦汁中 GABA 质量浓度逐渐平稳,青稞麦芽的比例对麦汁中 GABA 质量浓度有较大影响,青稞红曲的添加会增加麦汁中 GABA 的质量浓度;麦汁经发酵过程,GABA 的损失率为 10.7%。

关键词: γ -氨基丁酸;啤酒;青稞;青稞红曲

中图分类号: Q 815 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2018)11-1148-05

Study on the γ -Aminobutyric Acid(GABA) in Highland Barley Monascus Beer

ZHANG Rongxia^{1,2}, LI Qi^{1,2}, ZHU Linjiang^{1,2}, LIU Chunfeng^{1,2}, LI Yong-xian^{*1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: γ -Aminobutyric acid (GABA) is a non-protein amino acid which possesses important physiological functions such as antihypertensive effect. Though its application in the food industry was widely investigated, the research in the beer industry was rare. In this study, the content of GABA in beers on the present market usually ranged from 40 to 65 mg/L while this value reached 91.3 ± 6.9 mg/L in the highland barley Monascus beer. The GABA contents in wort were characterized in mashing and fermentation. The results showed that the GABA content grow at the beginning of the mashing and gradually flatten. The ratio for highland barley and barley malt obviously affect the GABA content. The content of GABA increased by adding the highland barley

收稿日期: 2016-02-27

基金项目: 国家 863 计划项目(2013AA102106-03); 国家自然科学基金项目(31271919, 31571942, 31301539); 江苏高校优势学科建设工程项目(PAPD); 教育部新世纪人才支持计划项目(NCET-10-0453); 国家 973 计划项目(2010CB735706)。

* 通信作者: 李永仙(1964—), 女, 四川彭州人, 工学硕士, 高级工程师, 硕士研究生导师, 主要从事发酵工程方面的研究。

E-mail: yxli@jiangnan.edu.cn

引用本文: 张荣霞, 李崎, 朱林江, 等. 青稞红曲啤酒中 γ -氨基丁酸(GABA)的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(11): 1148-1152.

Monascus. During the whole fermentation process, 10.7% of GABA was lost.

Keywords: γ -aminobutyric acid(GABA), beer, highland barley, highland barley Monascus

γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是一种天然的非蛋白质氨基酸,在自然界中广泛存在,是哺乳动物体内一种重要的抑制性神经递质^[1],对人体有降血压、抗心律失常等多种生理功能^[2-4]。

针对 GABA 在食品工业中的应用研究已广泛开展,如富含 GABA 的茶叶、桑叶、米胚芽、糙米等许多植物性食品^[5-6]。GABA 在发酵型饮料、酒类产品的检测及应用研究方面均有报道,比如对黄酒^[7]、黑莓啤酒^[8]、莜麦米酒^[9]及葡萄酒发酵过程^[10]中 GABA 含量进行检测分析,以及富含 GABA 的白酒、苹果醋饮料、梨酒等特色酒的研制。GABA 在啤酒领域的相关研究报道较少,2009 年 Iimure T^[11]等利用谷氨酸脱羧酶的作用,使用廉价的谷氨酸钠和大麦麸皮制备富含 GABA 水溶液,并将其添加到麦汁中,获得富含 GABA(257 $\mu\text{g/mL}$)的麦汁。但该过程较为繁琐,仅简单地将富含 GABA 的溶液加入麦汁中,并未展开发酵实验,而对于啤酒酿造原料中 GABA 质量浓度变化情况,糖化及啤酒酿造过程对 GABA 质量浓度的影响等也未做深入研究。

赵大伟等^[12]及曹斌等^[13]对国内外大麦籽粒、国外裸大麦籽粒、青藏高原裸大麦籽粒(青稞)进行检测,发现多棱裸麦中 GABA 质量分数更为丰富。而青稞作为中国高原特产裸麦,将其作为原料,生产富含 GABA 的食品或饮料具有潜在优势。青稞接种红曲霉进行发酵后,能制得富含 GABA 的青稞红曲。万强等^[14]对青稞红曲和市售红曲中的 GABA 质量分数进行了对比,发现青稞红曲中 GABA 质量分数高达 2.33 mg/g,远高于市售红曲米(0.63 mg/g),但未见在啤酒酿造过程中的应用研究报道。因此,在本实验室研究开发的一款青稞红曲啤酒的基础上,对市售啤酒和青稞红曲啤酒中 GABA 质量分数进行普测,对青稞麦芽和青稞红曲原料中的 GABA 质量分数进行检测,并进一步针对青稞红曲啤酒生产过程以及生产工艺对 GABA 质量分数的影响进行研究,为富含 GABA 的啤酒新品开发及工业化提供充分的理论依据和数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

材料:澳麦麦芽由中粮麦芽(江阴)有限公司提供,青稞麦芽及青稞红曲均由西藏月王生物技术有限公司提供,酒花(青岛大花),发酵啤酒酵母 G03 为本实验室保藏。

试剂:OPA、FMOC、结晶乙酸钠、三乙胺、甲醇、乙腈、醋酸及四氢呋喃均购于 Sigma 公司,色谱纯;GABA 购于 Fluka 公司,色谱纯;其他试剂均为分析纯,购于国药集团(上海)化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

仪器:美国安捷伦公司 Agilent 1100 高效液相色谱仪(配有紫外检测器)、UNICO(上海)仪器有限公司 UV-2000 分光光度计及 BIOER(杭州)科技有限公司 BGY-8 A 糖化仪等。

1.3 实验方法

1.3.1 麦汁制备 使用糖化仪按照预设的 45 $^{\circ}\text{C}$ 30 min, 63 $^{\circ}\text{C}$ 40 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 20 min, 78 $^{\circ}\text{C}$ 升温程序进行糖化。麦汁煮沸时长共 1 h,煮沸期间分 3 次加入酒花(按麦汁体积 0.03% 计算酒花添加量),煮沸结束后过滤并分装,115 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 15 min,冷却备用。

1.3.2 实验室规模发酵 取 0.2 g 酵母泥接种于装有 200 mL 无菌麦汁的三角瓶中,加灭菌后的发酵栓密封瓶口,于 12 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱发酵,通过 CO_2 失重确定主酵结束时间,主酵结束后过滤发酵液,低温保存待测。

1.3.3 GABA 质量浓度的分析 (1)GABA 液相色谱分析方法。采用文献[15]中方法进行 GABA 质量浓度的测定。(2)样品预处理方法。样品用 8 mol/L 盐酸进行水解,120 $^{\circ}\text{C}$ 水解 22 h 后加入 NaOH 溶液中和,转移并定容至 25 mL,经 0.45 μm 滤膜过滤后测定 GABA 质量浓度。

2 结果与讨论

2.1 青稞红曲啤酒与市售啤酒中 GABA 质量浓度的比较

采用青稞麦芽和大麦麦芽添加比例为 5:5,青

稗红曲添加比例为 0.5%制得青稗红曲麦汁,接种酵母发酵,过滤后进行检测分析,同时检测 9 种不同市售啤酒样品(样品信息如表 1 所示),与本研究

得青稗红曲啤酒进行对照分析,GABA 质量浓度如图 1 所示。

表 1 啤酒样品信息表
Table 1 Information of beer samples

样品编号	原麦汁浓度 (柏拉固度)°P	酒精度(体积分数)/%	产地	配料表
市售品牌 1	9.7	3.6	湖北武汉	麦芽、大米
市售品牌 2	9	3.6	江苏苏州	麦芽、淀粉、小麦芽
市售品牌 3	11	4.3	上海	麦芽、大米
市售品牌 4	8	2.5	北京	麦芽、大米
市售品牌 5	11.4	4.7	广东广州	麦芽
市售品牌 6	11.1	4.3	广东惠州	麦芽
市售品牌 7	9.1	3.6	湖北武汉	麦芽、大米
市售品牌 8	11	3.7	北京	麦芽、淀粉
市售品牌 9	7.5	2.7	江苏昆山	麦芽、糖浆、大米、果葡糖浆、食用香料

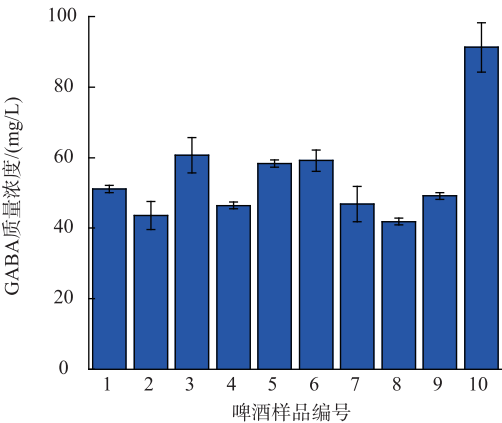


图 1 啤酒中 GABA 的质量浓度
Fig. 1 GABA content in beers

图 1 中,横坐标样品编号 1-9 为普通市售样品,10 为青稗红曲啤酒。为了使数据具有可比性,数据归一化为原麦汁浓度为 11 °P 时样品中 GABA 的含量。

由图 1 可见,普通市售啤酒中 GABA 含量范围介于 40~65 mg/L 之间,青稗红曲啤酒 GABA 质量浓度为 91.3±6.9 mg/L,高于普通市售啤酒。

2.2 原料中 GABA 质量分数分析

分别对本实验所用原料青稗麦芽、大麦麦芽和青稗红曲进行 GABA 质量分数的测定,青稗麦芽和大麦麦芽中 GABA 质量分数分别为 0.791±0.034 mg/g 和 0.324±0.031 mg/g,青稗红曲 GABA 质量分数为 1.967±0.059 mg/g。青稗麦芽中 GABA 质量分

数高于大麦麦芽,青稗红曲中含有较丰富的 GABA,青稗麦芽和青稗红曲为酿造 GABA 质量分数较高的青稗红曲啤酒提供了 GABA 的来源。

2.3 糖化工艺对麦汁中 GABA 质量浓度的影响

2.3.1 糖化过程中麦汁中 GABA 质量浓度的变化
使用 1.3.1 节中方法进行糖化(只使用大麦麦芽作为原料),在糖化过程不同阶段进行取样,过滤并分析滤液中 GABA 质量浓度,结果如图 2 所示。

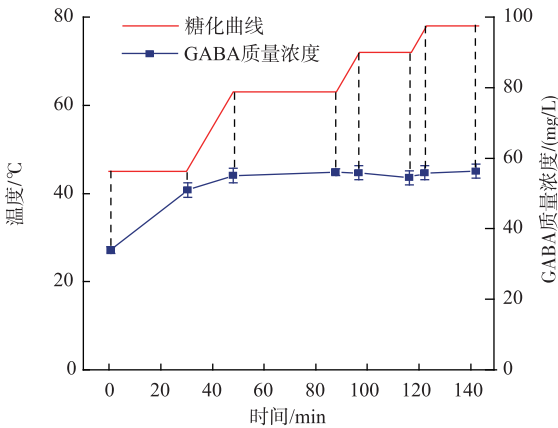


图 2 糖化过程中游离 GABA 质量浓度变化
Fig. 2 GABA contents of mashes at different intervals during mashing process

图 2 展现了糖化过程中 GABA 质量浓度的变化情况,可以看出,糖化初期麦汁中 GABA 质量浓度逐渐升高,当糖化温度升至 63 °C 时麦汁中 GABA 质量浓度趋于稳定,不再随糖化时间延长及温度的

升高而显著变化。

2.3.2 不同比例青稞麦芽对麦汁中 GABA 含量的影响 采用不同比例青稞麦芽进行糖化,研究其对麦汁中 GABA 质量浓度的影响,结果如图 3 所示。

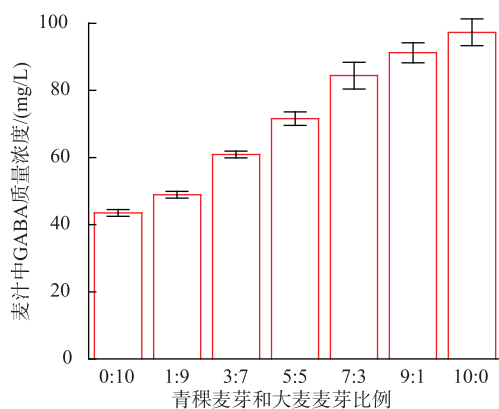


图 3 青稞麦芽和大麦麦芽比例对麦汁中游离 GABA 质量浓度的影响

Fig. 3 Effect of different highland barley malt and barley malt ratio on free GABA content in wort

图 3 结果表明,随着青稞麦芽比例的增加,麦汁中 GABA 质量浓度从 43.5 ± 0.8 mg/L 增加至 97.3 ± 3.9 mg/L。这是由于青稞麦芽比大麦麦芽含有更多 GABA,由于青稞麦芽过滤等因素,本实验室青稞红曲啤酒采用的青稞麦芽比例为 5:5,此时麦汁中 GABA 含量相较 0:10 时提高了 64%。

2.3.3 青稞红曲添加比例对麦汁中 GABA 质量浓度的影响 因为青稞红曲中含有大量的 GABA,因此在考察青稞红曲添加比例时,同时考察 GABA 的质量浓度,结果如图 4 所示。

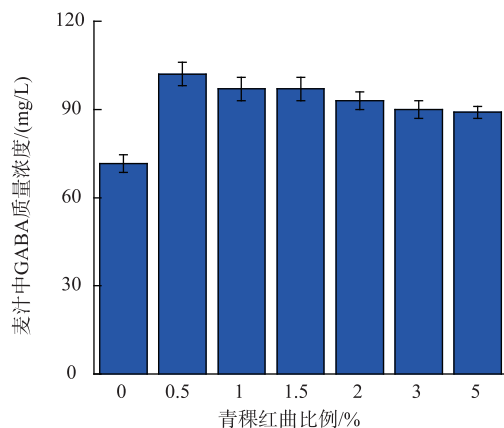


图 4 青稞红曲添加比例对麦汁 GABA 质量浓度的影响

Fig. 4 Effect of the proportion of highland barley Monascus on GABA content in wort

青稞麦芽和大麦麦芽添加比例为 5:5,按照不同青稞红曲添加比例制备麦汁,所得麦汁中 GABA 含量如图 4 所示,尽管青稞红曲添加比例较小与不添加青稞红曲的样品相比,青稞红曲添加量为 0.5%、1%、1.5%、2%、3%和 5%时麦叶中总 GABA 含量均有所增加,青稞红曲的添加能够提高麦汁中总 GABA 的质量浓度。其中青稞红曲添加比例为 0.5%时,麦汁中总 GABA 质量浓度 (102.4 ± 4.1 mg/L) 即有一定增加,但是进一步提高添加比例,不能提高其质量浓度,具体原因需要进一步研究。

2.4 发酵对 GABA 质量浓度的影响

为了探究发酵过程对 GABA 含量的影响,将实验室保藏的下面发酵啤酒酵母 G03 接种于不同 GABA 含量的麦汁 (在麦汁中添加不同含量的 GABA) 进行实验室规模发酵,分别测定麦汁及发酵液中 GABA 含量,对比结果如图 5 所示。

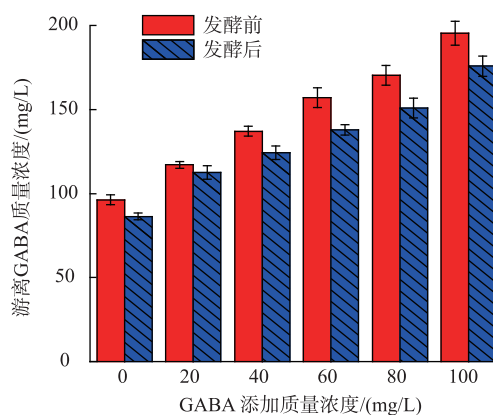


图 5 麦汁及发酵液中 GABA 质量浓度对比

Fig. 5 Comparison of GABA contents between wort and fermented liquor

如图 5 所示,发酵过程中 GABA 质量浓度均有一定程度降低,其降低率为 $(10.7 \pm 1.1)\%$,麦汁中约 90% GABA 仍保留于发酵液中,发酵液中 GABA 质量浓度随着麦汁中 GABA 质量浓度的增加而增加,啤酒酵母发酵过程对 GABA 质量浓度影响较小,因此可以通过分析麦汁中 GABA 质量浓度预测啤酒中 GABA 的质量浓度。

3 结 语

本实验对原料的分析结果表明,青稞麦芽中的 GABA 质量浓度高于大麦麦芽,青稞红曲中含有丰富的 GABA (质量分数为 1.967 ± 0.059 mg/g)。工艺研

究结果表明麦汁中 GABA 质量浓度在糖化过程中先增加再趋于平稳。青稞麦芽添加比例对麦汁中 GABA 质量浓度有较大影响,随着青稞麦芽添加比例的增加,麦汁中 GABA 质量浓度增加(见图 3)。青稞红曲添加比例为 0.5% 时,麦汁中 GABA 质量浓度 (102.4 ± 4.1 mg/L) 有一定增加,但是进一步提高青稞红曲添加比例,不能提高 GABA 质量浓度。麦汁经

发酵后 GABA 质量浓度损失约为 $(10.7 \pm 1.1)\%$, 90% 的 GABA 仍保留在发酵液中。因此,青稞麦芽和青稞红曲是青稞红曲啤酒中 GABA 质量浓度较高的主要因素。然而,青稞红曲添加比例对麦汁中 GABA 质量浓度的影响和发酵过程中 GABA 减少的原因仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] WU C, SUN D. GABA receptors in brain development, function, and injury[J]. **Metab Brain Dis**, 2015, 30(2): 367-379.
- [2] YANG Shengyuan, LU Zhaoxin, LU Fengxia, et al. Research progress on microbial glutamate decarboxylase[J]. **Food Science**, 2005, 26(9): 546-551. (in Chinese)
- [3] GUILLAUME V, PIERRE T, FRAN O D, et al. Low posttrauma GABA plasma levels as a predictive factor in the development of acute posttraumatic stress disorder[J]. **Biological Psychiatry**, 2004, 55(3): 250-254.
- [4] XIE Zhenxing, LI Xiu, Geng Xu, et al. GABA inhibits the liver oxidative stress and hepatic steatosis in high-fat diet-fed obese mice[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2015(6): 613-620. (in Chinese)
- [5] ZHANG Hui, YAO Huiyuan, JIANG Yuanrong. Development of the health food enriched with γ -aminobutyric acid (GABA)[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2002(9): 69-72. (in Chinese)
- [6] TSUSHIDA T, MURAI T. Conversion of glutamic acid to γ -aminobutyric acid in tea leaves under anaerobic conditions (Biological Chemistry)[J]. **Agricultural & Biological Chemistry**, 1987, 51: 2865-2871.
- [7] XIE Guangfa, DAI Jun, ZHAO Guangao, et al. γ -aminobutyric acid in the rice wine and its healthy function[J]. **China Brewing**, 2005(3): 49-50. (in Chinese)
- [8] HU Xuelian, WANG Honghua, WANG Lina. Determination of γ -aminobutyric acid in blackberry juice and blackberry beer by HPLC[J]. **China Brewing**, 2015, 34(3): 150-153. (in Chinese)
- [9] LIU Wenbo, YI Haocheng, LI Suhong, et al. Determination of γ -aminobutyric acid in naked oats wine by high performance liquid chromatography[J]. **Science and Technology of Cereals, Oils and Foods**, 2013(1): 67-70. (in Chinese)
- [10] LI Bo, LI Lei, DENG Xuheng, et al. Change of γ -butyric acid content in wine fermentation [J]. **China Brewing**, 2011(7): 171-173. (in Chinese)
- [11] IIMURE T, KIHARA M, HIROTA N, et al. A method for production of γ -amino butyric acid (GABA) using barley bran supplemented with glutamate[J]. **Food Research International**, 2009, 42(3): 319-323.
- [12] ZHAO Dawei, PU Xiaoying, ZENG Yawen, et al. Determination of the γ -aminobutyric acid in barley [J]. **Journal of Triticeae Crops**, 2009(1): 69-72. (in Chinese)
- [13] CAO Bin, PAN Zhifen, NIMA Zhaxi, et al. Distribution of γ -aminobutyric acid in the grains of naked barley collected from Qinghai-Tibet plateau and abroad[J]. **Journal of Triticeae Crops**, 2010(3): 555-559. (in Chinese)
- [14] WAN Qiang, LIU Min, CHEN Xingpeng, et al. The quality analysis of highland barley *Monascus* [J]. **Food Science and Technology**, 2013(9): 267-270. (in Chinese)
- [15] ZHANG Hui, WU Huifang, YAO Huiyuan. Determination of γ -aminobutyric acid in rice germ by HPLC with automatic pre-column derivation and UV detection[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2003(10): 50-52. (in Chinese)