
БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

УДК 57.033

ОЦЕНКА ЭНДОГЕННОГО АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА БЕЛОРУССКИХ СОРТОВ ПИВА ПРИ ЕГО ХРАНЕНИИ В РАЗЛИЧНОЙ УПАКОВКЕ

А. А. РУСАКОВИЧ¹⁾, В. В. ДЕМИДЧИК¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Аннотация. При длительном хранении пива в нем развиваются окислительные процессы, приводящие к ухудшению качества напитка. В основе этого лежит генерация активных форм кислорода, которая может вызываться диффузией кислорода через элементы упаковки либо преобразованием внутренних кислородсодержащих источников. Для анализа свободнорадикальных процессов в пиве в последние годы активно используется спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Она позволяет оценить окислительную стабильность пива по так называемому эндогенному антиоксидантному потенциалу, величина которого коррелирует со временем хранения и вкусовыми качествами напитка. Одним из важнейших вопросов в пивной индустрии является эффективность различных видов изолирующей упаковки в отношении окислительных процессов. Имеется ряд работ, указывающих на то, что жестяная банка и стеклянная бутылка обеспечивают лучшую сохранность пива по сравнению с полиэтиленовой бутылкой. Однако неясно, связано ли это с окислительными явлениями. В представленной работе с использованием адаптированных методов ЭПР-спектроскопии на базе ЭПР-спектрометра белорусского

Образец цитирования:

Русакович АА, Демидчик ВВ. Оценка эндогенного антиоксидантного потенциала белорусских сортов пива при его хранении в различной упаковке. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2024;2:55–62.
EDN: OEAXLC

For citation:

Rusakovich AA, Demidchik VV. Assessment of the endogenous antioxidant potential of Belarusian beers during its storage in different packaging. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2024;2:55–62. Russian.
EDN: OEAXLC

Авторы:

Алина Андреевна Русакович – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии и биотехнологии растений кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Вадим Викторович Демидчик – доктор биологических наук, член-корреспондент НАН Беларуси, профессор; декан биологического факультета.

Authors:

Alina A. Rusakovich, junior researcher at the laboratory of plant physiology and biotechnology, department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.

aalinarusakovich@gmail.com

Vadim V. Demidchik, doctor of science (biology), corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, full professor; dean of the faculty of biology.

dzemidchik@bsu.by

производства были выявлены отличия в величине эндогенного антиоксидантного потенциала как для различных сортов пива, так и для разных типов упаковки (полиэтиленовая бутылка, стеклянная бутылка и жестяная банка). Показано, что пиво, хранящееся в полиэтиленовой бутылке, имеет значительно более низкий эндогенный антиоксидантный потенциал, чем пиво, хранящееся в стеклянной бутылке. Кроме того, установлено, что окислительные характеристики одного и того же сорта пива, хранящегося в жестяной банке и стеклянной бутылке, не отличаются.

Ключевые слова: электронный парамагнитный резонанс; спиновые ловушки; свободные радикалы; окисление пива.

Благодарность. Авторы выражают признательность ЗАО «Адвин Смарт Фэктори» за техническую поддержку при проведении исследования, а также менеджеру по развитию производства ОАО «Криница» И. С. Чернышеву за предоставление образцов для анализа.

ASSESSMENT OF THE ENDOGENOUS ANTIOXIDANT POTENTIAL OF BELARUSIAN BEERS DURING ITS STORAGE IN DIFFERENT PACKAGING

A. A. RUSAKOVICH^a, V. V. DEMIDCHIK^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: A. A. Rusakovich (aalinarusakovich@gmail.com)

Abstract. During long-term storage, oxidative processes develop in beer, leading to a deterioration in the quality of this drink. This is based on the production of reactive oxygen species, which can be caused by the diffusion of oxygen through packaging elements or transformation of internal oxygen-containing sources. Electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy has been actively used in recent years to analyse free radical processes in beer. It allows to evaluate the oxidative stability of beer by the so-called endogenous antioxidant potential, the value of which correlates with storage time and taste of the drink. One of the most important issues in the beer industry is the effectiveness of various types of insulating packaging in relation to oxidative processes. There are a number of studies indicating better preservation of beer in a can and glass bottle compared to a polyethylene bottle. However, it is not clear whether this is due to oxidative phenomena. In the presented work, using adapted EPR spectroscopy methods based on the EPR spectrometer manufactured in Belarus, differences in the value of endogenous antioxidant potential were identified for both different types of beer and different types of packaging (polyethylene bottle, glass bottle and can). Beer stored in a polyethylene bottle has been shown to have a significantly lower endogenous antioxidant potential compared to beer stored in a glass bottle. It was also found that the oxidation characteristics of the same type of beer stored in a can and a glass bottle do not differ.

Keywords: electron paramagnetic resonance; spin traps; free radicals; beer oxidation.

Acknowledgements. The authors express their gratitude to CJSC «Advin Smart Factory» for technical support during the research, as well as to the production development manager of OJSC «Krinitsa» I. S. Chernyshev for providing samples for analysis.

Введение

Пиво является одним из наиболее распространенных алкогольных напитков в мире, а также лидером по объемам производимой продукции в биотехнологии [1; 2]. Употребление пива, которое по сравнению с водкой и вином отличается низким содержанием алкоголя, имеет значительный социальный эффект, так как оно заменяет, в особенности в странах Восточной Европы, более крепкие спиртные напитки [3]. В настоящее время в мире существуют десятки тысяч сортов пива, а его потребление находится на стабильно высоком уровне, продолжая расти, что связано с увеличением ассортимента, разработкой новых рецептов и отказом потребителей от других алкогольных напитков [4].

В состав пива входят ряд органических соединений (включая органические кислоты, аминокислоты, сахара, полисахариды, спирты), определяющих его вкусовые качества [5; 6]. Проведенные исследования также показывают, что пиво содержит значительное количество полезных для человека веществ, таких как витамины, антиоксиданты, микроэлементы и др. [5; 7]. Как и в других продуктах питания, в пиве при хранении происходят окислительные реакции, приводящие к ухудшению его качества и полезных свойств [8; 9]. Срок годности пива в значительной степени определяется скоростью протекания данных процессов.

В основе окислительных превращений в пиве лежат генерация активных форм кислорода (АФК) и накопление окисленных производных органических соединений [10]. Проблема увеличения срока годности пива, сохранения свежести вкуса и поддержания антиоксидантной активности напитка является одной из важнейших в пивной индустрии. В последние годы высказаны предположения о том, что окислительные процессы в пиве связаны с его насыщением излишком кислорода при производстве, а также с проникновением кислорода через упаковку [11]. Тем не менее данные предположения пока не подкреплены экспериментальными доказательствами.

Для регистрации и описания свободных радикалов в различных разделах биологии и химии, в том числе при анализе окислительных процессов, происходящих в пиве, широко применяется спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) [12–14]. Под ЭПР понимают поглощение электромагнитного излучения определенной частоты парамагнитным веществом (электронами), помещенным в постоянное магнитное поле [15]. Согласно квантово-механической модели заряженные свободные электроны вращаются вокруг своей оси, что приводит к возникновению магнитного момента, или спина. Спин может находиться в двух ориентациях относительно магнитного поля – параллельной и антипараллельной. Для каждой из ориентаций характерен разный уровень энергии. Поглощая микроволновое излучение, спин может переходить с одного энергетического уровня на другой. Резонанс возникает в результате совпадения энергии излучения с энергией, необходимой для перехода [16]. Уменьшению мощности излучения при резонансе соответствует сигнал, который регистрируется, обрабатывается и представляется в виде первой производной кривой поглощения (ЭПР-спектра). Для количественной характеристики сигнала применяется двойное интегрирование первой производной ЭПР-спектра [17]. Регистрация ЭПР-спектров осуществляется ЭПР-спектрометрами. В последние годы производство доступных по цене ЭПР-спектрометров налажено в Беларуси ЗАО «Адвин Смарт Фэктори». Адаптация данных приборов под исследование окислительных процессов и эндогенного антиоксидантного потенциала (ЭАП) пива представляется весьма актуальной задачей.

Использование метода ЭПР-спектроскопии сопряжено с рядом трудностей, в частности с тем, что радикальные молекулы быстро распадаются или вступают во взаимодействия с другими молекулами биологических систем [17]. Данная особенность делает концентрацию свободных радикалов непостоянной и затрудняет их прямое определение. Для анализа короткоживущих свободных радикалов применяются так называемые спиновые ловушки. В качестве них чаще всего используются нитронные соединения или нитрозосоединения, специфично реагирующие со свободными радикалами [18]. В результате взаимодействия свободного радикала и спиновой ловушки формируются долгоживущие стабильные парамагнитные аддукты, т. е. радикальные молекулы, которые могут длительное время регистрироваться ЭПР-спектрометром [19].

Для изучения процессов окисления в пиве в основном используются такие спиновые ловушки, как α -фенил-N-трет-бутилнитрон (PBN) и α -4-пиридил-1-оксид-N-трет-бутилнитрон (POBN) [20]. Они формируют стабильные аддукты с гидроксильным и другими радикалами [21]. Для анализа ЭАП пива первой была разработана методика на основе PBN, которая активно применяется до настоящего времени. PBN имеет низкую цену, однако, как выяснилось, не обладает высокой селективностью и доступностью в водной фазе [22]. В последние годы использование PBN также критикуется некоторыми авторами ввиду генерации артефактов, связанных с редокс-активностью самого PBN [10]. Применение POBN в качестве альтернативы PBN имеет большие перспективы, так как позволяет повысить чувствительность измерения, исключает ряд артефактов и лучше подходит для водных систем. Немаловажно, что, несмотря на более высокую по сравнению с PBN стоимость, POBN при проведении опытов требуется в более низкой концентрации.

Целью настоящей работы являлась адаптация методов ЭПР-спектроскопии в комбинации со спиновой ловушкой к измерению ЭАП белорусских сортов пива, разлитых в различные типы упаковки, с использованием ЭПР-спектрометра отечественного производства.

Материалы и методы исследования

Измерения выполнялись на сортах пива «Крыніца. Моцнае», «Жигулевское», «Brauberg», «Золото пивовара» производства ОАО «Криница» (Беларусь), разлитых в тару разного типа. Использовались образцы одной даты производства, приобретенные в различных пунктах продажи. Исследования проводились на 30-й день с даты изготовления.

Окислительная стабильность отобранных образцов изучалась на основе методики искусственного старения пива при повышенной температуре [9]. Сначала образцы подвергались дегазации (устранение CO_2) путем центрифугирования (10 000 об/мин (или 11 180 g), 10 мин, 22 °C) в стерильных пробирках объемом 15 мл с открытой крышкой (объем пробы составлял 10 мл). После дегазации пробирки плотно закрывались, чтобы препятствовать притоку кислорода из воздуха. В дегазированные образцы добавлялась

спиновая ловушка POBN (*Sigma-Aldrich*, США) в конечной рабочей концентрации 3 ммоль/л, после чего выполнялось инкубирование на термошейкере (250 об/мин, 300 мин, 60 °С). Спустя определенные промежутки времени осуществлялись отбор 50 мкл образца и регистрация его ЭПР-спектра. Для проведения ЭПР-анализа образец помещался в стеклянный капилляр (*Blaubrand*, Германия), который закупоривался инертным воском и погружался в резонатор ЭПР-спектрометра SpinscanX (ЗАО «Адвин Сمارт Фэктори», Беларусь). При регистрации ЭПР-спектров использовались следующие параметры: частота модуляции – 100 000 Гц, центр поля – 336 мТл, ширина развертки – 6 мТл, время записи – 60 с, временная константа – 0,046 с, амплитуда модуляции – 100 мкТл. Анализ полученных спектров проводился в программе *e-Spinoza*. Для обработки результатов использовались стандартные методы вариационной статистики. Основными статистическими характеристиками служили средняя арифметическая величина ($\bar{X}$), среднее квадратичное отклонение (σ) и ошибка средней величины ($S\bar{x}$). Для количественной характеристики сигнала применялось двойное интегрирование первой производной ЭПР-спектра. Значение ЭАП определялось по точке перегиба кинетической кривой накопления спинового аддукта при нагревании образцов пива (рис. 1) [9].

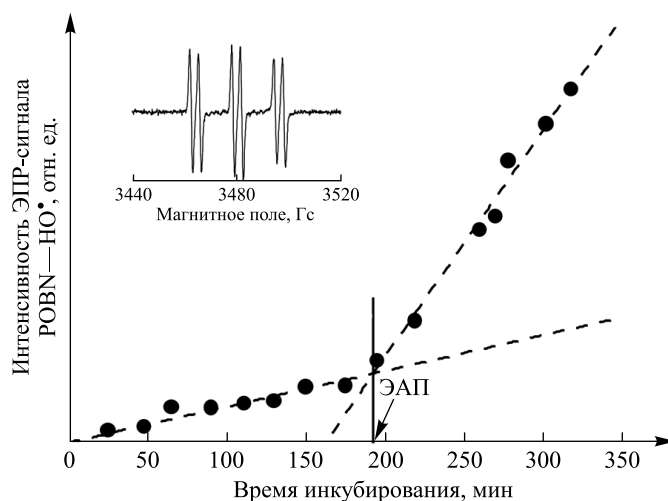


Рис. 1. Изменение интенсивности ЭПР-сигнала
спинового аддукта POBN—NO• в образце пива
в зависимости от времени инкубирования

Fig. 1. Change in the intensity
of the electron paramagnetic resonance (EPR) signal
of the spin adduct POBN—NO• in the sample of beer
depending on the incubation time

Присутствующие в пиве эндогенные антиоксиданты способны ингибировать образование в нем свободных радикалов в течение длительного времени [22]. После истощения антиоксидантов количество свободных радикалов лавинообразно нарастает, и происходит формирование аддуктов свободных радикалов со спиновой ловушкой, приводящее в экспериментальных условиях к увеличению интенсивности ЭПР-сигнала (см. рис. 1) [23]. Соответственно, чем больше значение ЭАП и ниже интенсивность образования спиновых аддуктов в образце, тем выше антиоксидантный потенциал образца, т. е. устойчивость к окислению и стабильность вкуса пива [22].

Результаты и их обсуждение

В ходе работы были получены кривые зависимости интенсивности ЭПР-сигнала спинового аддукта POBN—NO• от времени инкубирования образцов при повышенной температуре (60 °С), т. е. в условиях искусственного старения, для трех сортов пива, хранившихся в полиэтиленовых (ПЭТ) и стеклянных бутылках (рис. 2). Как следует из полученных данных, все сорта реагировали на искусственное старение увеличением количества свободнорадикальных аддуктов POBN—NO•. Однако этот эффект развивался значительно быстрее в случае хранения пива в ПЭТ-упаковке. Так, у сортов пива «Крыніца. Моцнае», «Жигулевское» и «Brauberg», разлитых в ПЭТ-бутылки, отсутствовала лаг-фаза в накоплении свободных радикалов, обычно предшествующая пику, связанному с накоплением радикалов при искусственном старении (см. рис. 1 и 2). Таким образом, сорта пива «Крыніца. Моцнае», «Жигулевское» и «Brauberg», хранившиеся в ПЭТ-бутылках, вероятно, прошли полный процесс старения за 30 дней и не обладали антиоксидантной способностью. Отсутствие лаг-фазы наблюдалось также и для образца пива

сорта «Brauberg» из стеклянной бутылки, что может указывать на возможное обогащение кислородом на заключительных этапах производства этого пива. Тем не менее в отличие от образца того же сорта из ПЭТ-бутылки кривая для данного образца из стеклянной тары характеризовалась невысокими значениями интенсивности накопления спиновых аддуктов в процессе старения. Соответственно, стеклянная упаковка предохраняла это пиво от снижения ЭАП, т. е. продлевала срок его годности. Согласно литературным данным существует прямая корреляция между ЭАП и вкусовыми и органолептическими свойствами пива [24]. В настоящей работе подобные тесты не проводились, так как они требуют наличия обученных и аттестованных специалистов.

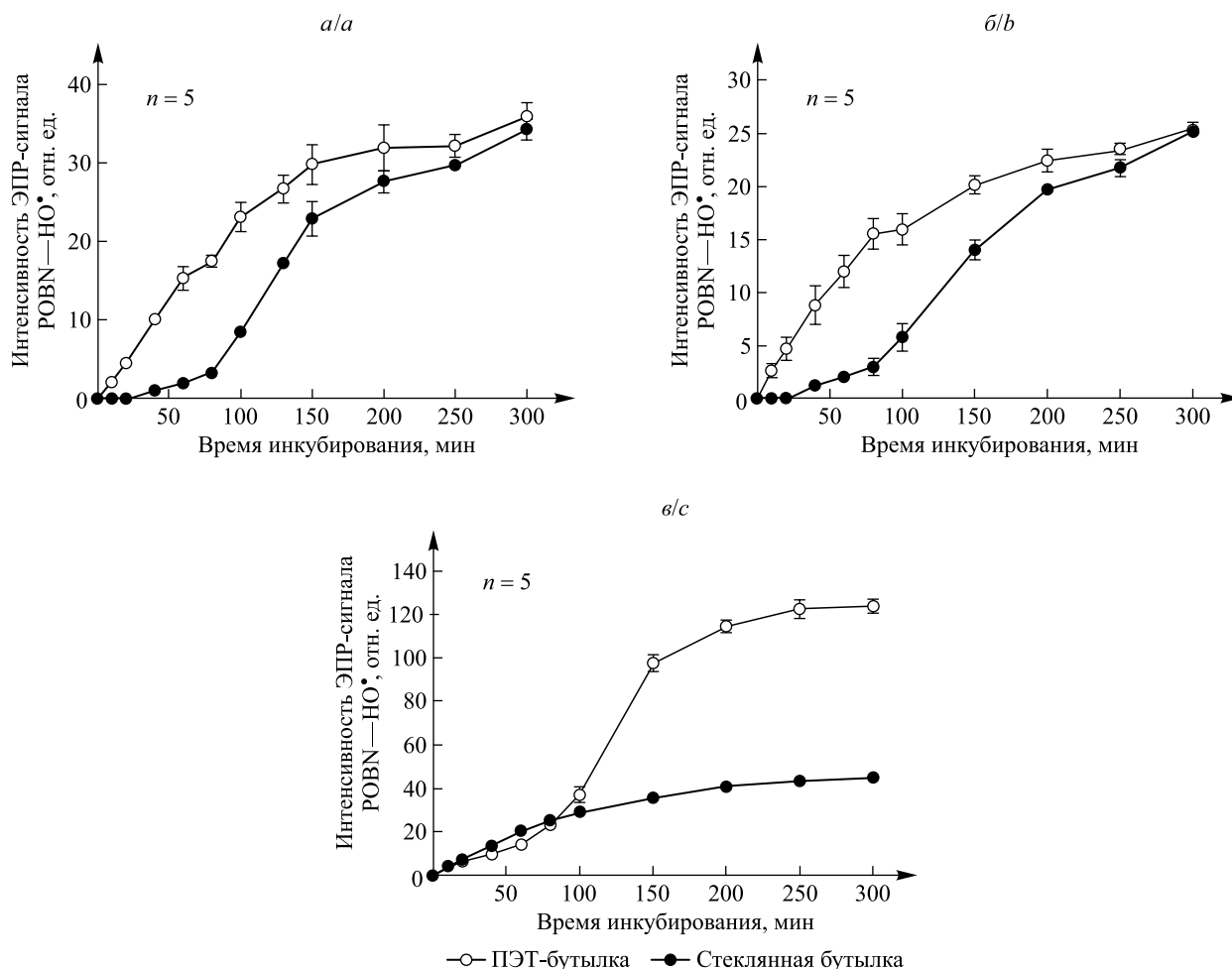


Рис. 2. Изменение интенсивности ЭПР-сигнала спинового аддукта POBN—HO• в образцах пива сортов «Крыніца. Моцнае» (а), «Жигулевское» (б), «Brauberg» (в) в зависимости от времени инкубирования

Fig. 2. Change in the intensity of the EPR signal of the spin adduct POBN—HO• in the samples of beers «Krynitsa. Strong» (a), «Zhigulevskoe» (b), «Brauberg» (c) depending on the incubation time

Проведенные опыты показали, что кинетическая кривая накопления спиновых аддуктов в образцах пива сортов «Крыніца. Моцнае» и «Жигулевское» в начале инкубирования характеризовалась выраженной лаг-фазой и резким увеличением интенсивности ЭПР-сигнала на определенном этапе инкубирования (см. рис. 2). Интенсивность ЭПР-сигнала на завершающем этапе инкубирования достигала значений, аналогичных значениям для образцов из ПЭТ-тары. Данный факт указывает на то, что общее количество органического вещества в протестированных образцах пива было приблизительно одинаковым, но образцы, находившиеся в течение 30 дней в стеклянной таре, намного лучше сохранили ЭАП, чем образцы, которые хранились в ПЭТ-упаковке.

В работе также были получены кривые зависимости интенсивности ЭПР-сигнала спинового аддукта POBN—HO• для сорта пива «Золото пивовара», разлитого в стеклянную бутылку и жестяную банку (рис. 3). Согласно информации, доступной на веб-сайте ОАО «Криница», это пиво производится по особым рецептурам на новейшем оборудовании из лучшего зарубежного солода.

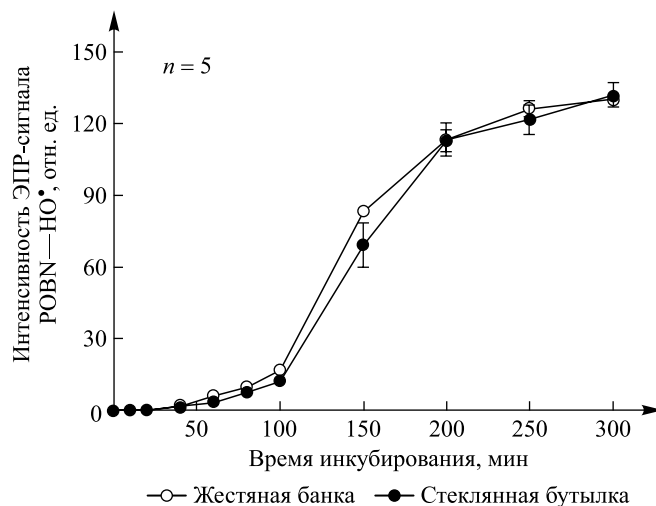


Рис. 3. Изменение интенсивности ЭПР-сигнала спинового аддукта POBN—HO• в образце пива сорта «Золото пивовара» в зависимости от времени инкубирования

Fig. 3. Change in the intensity of the EPR signal of the spin adduct POBN—HO• in the sample of beer «Zoloto pivovara» depending on the incubation time

Для сорта «Золото пивовара» была характерна высокая интенсивность образования свободных радикалов после завершения лаг-фазы, что указывает на изначальную насыщенность данного пива неразложившимися органическими веществами с антиоксидантными свойствами. Примечательно, что значения интенсивности ЭПР-сигнала POBN—HO• в образцах пива «Золото пивовара» из стеклянной бутылки и жестяной банки не имели достоверных отличий. Таким образом, затемненная стеклянная бутылка (коричневое стекло) и жестяная банка демонстрировали приблизительно одинаковый уровень защиты от окисления для одного и того же сорта пива. Эти данные указывают на то, что свет, проникающий через затемненное стекло, не влияет на процессы окисления, и эффективность упаковки главным образом связана с предотвращением поступления кислорода.

Кроме того, для всех образцов был определен уровень ЭАП (рис. 4). Самым высоким ЭАП среди протестированных образцов обладал сорт «Золото пивовара» – 89 мин в жестяной банке и 95 мин в стеклянной бутылке. Для сорта «Крыніца. Мощнае» ЭАП составил 80 мин, для сорта «Жигулевское» – 77 мин. Согласно литературным данным это достаточно высокие значения, указывающие на хорошее качество производимого пива [22].

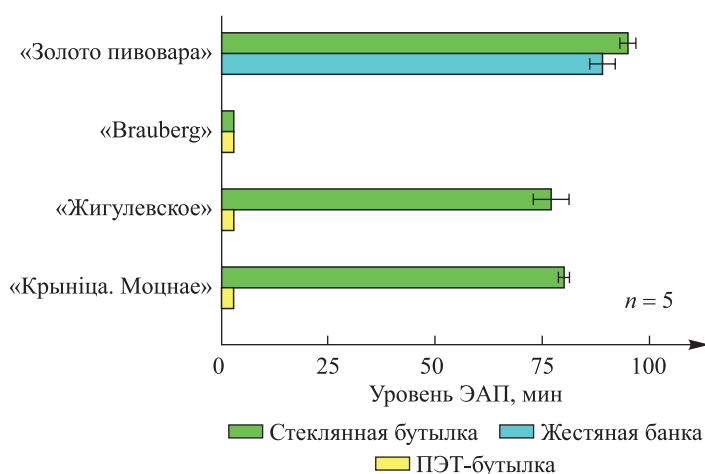


Рис. 4. Уровень ЭАП образцов пива сортов «Золото пивовара», «Brauberg», «Жигулевское», «Крыніца. Мощнае» из различной упаковки

Fig. 4. Level of endogenous antioxidant potential of samples of the beers «Zoloto pivovara», «Brauberg», «Zhigulevskoe», «Krynitsa. Strong» from various packaging

Продemonстрированные в настоящей работе низкая сохранность пива и падение его антиоксидантной способности в ПЭТ-упаковке согласуются с недавно полученными метаболомными данными [25–27]. Метаболомные исследования показывают, что при длительном хранении пива появляется пул более окисленных форм органических кислот и аминокислот (было заметно и в представленной работе). Одними из ключевых радикальных компонентов, которые образуются в пиве при его старении, являются карбонильные соединения. Данные вещества формируются в ходе реакций карбонилирования, катализируемых АФК [28], в результате встраивания радикализированных фрагментов органических соединений различной природы, инициируемых наиболее реакционно-активными АФК, главным образом гидроксильными радикалами. Накопление карбонилированных форм органических соединений изменяет вкус напитка: он приобретает так называемый картонный привкус, характерный для несвежего пива [28]. Карбонильные соединения образуются и при искусственном старении пива. Примечательно также, что ЭПР-спектрометр белорусского производства показал схожую эффективность и чувствительность измерения с широко используемыми приборами производства компаний *Bruker* (Германия) и *Nippon Denshi* (Япония) [29–31].

Заключение

В настоящем исследовании с использованием метода ЭПР-спектроскопии в присутствии спиновой ловушки POBN проведена оценка влияния типа упаковки пива на его ЭАП. Кинетический анализ накопления спиновых аддуктов в условиях ускоренного старения пива показал, что стеклянная и жестяная тара обеспечивает одинаковый уровень защиты напитка от окисления и способствует более длительному сохранению его окислительной стабильности. В то же время ПЭТ-упаковка неэффективно защищает пиво от окисления. Также можно заключить, что свет, проникающий через затемненное стекло, не влияет на процессы разложения и окисления пива, так как не наблюдалось разницы в окислении образцов напитка из стеклянной бутылки и жестяной банки. Соответственно, упаковка главным образом препятствует проникновению в пиво кислорода.

Библиографические ссылки / References

1. Piornos JA, Koussissi E, Balagiannis DP, Brouwer E, Parker JK. Alcohol-free and low-alcohol beers: aroma chemistry and sensory characteristics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2023;22(1):233–259. DOI: 10.1111/1541-4337.13068.
2. Chen Xiaodie, Song Chuan, Zhao Jian, Xiong Zhuang, Peng Lianxin, Zou Liang, et al. Application of strain selection technology in alcoholic beverages: a review. *Foods*. 2024;13(9):1396. DOI: 10.3390/foods13091396.
3. Anderson P, Kokole D, Llopis EJ, Burton R, Lachenmeier DW. Lower strength alcohol products – a realist review-based road map for European policy making. *Nutrients*. 2022;14(18):3779. DOI: 10.3390/nu14183779.
4. Poelmans E, Swinnen JFM. A brief economic history of beer. In: Swinnen JFM, editor. *The economics of beer*. Oxford: Oxford University Press; 2011. p. 3–28. DOI: 10.1093/acprof:oso/9780199693801.003.0001.
5. Sohrabvandi S, Mortazavian AM, Rezaei K. Health-related aspects of beer: a review. *International Journal of Food Properties*. 2012;15(2):350–373. DOI: 10.1080/10942912.2010.487627.
6. Tirado-Kulieva VA, Hernández-Martínez E, Minchán-Velayarce HH, Pasapera-Campos SE, Luque-Vilca OM. A comprehensive review of the benefits of drinking craft beer: role of phenolic content in health and possible potential of the alcoholic fraction. *Current Research in Food Science*. 2023;6:100477. DOI: 10.1016/j.crf.2023.100477.
7. Humia BV, Santos KS, Barbosa AM, Sawata M, Mendonça MC, Padilha FF. Beer molecules and its sensory and biological properties: a review. *Molecules*. 2019;24(8):1568. DOI: 10.3390/molecules24081568.
8. Karabín M, Rýparová A, Jelinek L, Kunz T, Wietstock P, Methner F-J, et al. Relationship of iso- α -acid content and endogenous antioxidative potential during storage of lager beer. *Journal of the Institute of Brewing*. 2014;120(3):212–219. DOI: 10.1002/jib.140.
9. Kunz T, Woest H, Lee E-J, Müller C, Methner F-J. Improvement of the oxidative wort and beer stability by increased unmalted barley proportion. *Brewing Science*. 2011;64(7–8):75–82.
10. Stasko A, Rapta P, Malik F. Charakterisierung der Bierstabilität mit Hilfe von Radikalfängern (eine EPR-Studie). *Monatsschrift für Brauwissenschaft*. 2000;53(1–2):4–7.
11. Elshani A, Hoxha I, Kongoli R. *Role of oxygen in beer production and quality*. [S. l.]: Éditions universitaires européennes; 2016. 52 p.
12. Polovka M. EPR spectroscopy: a tool to characterize stability and antioxidant properties of foods. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2006;45(1):1–11.
13. Goodman BA, Yeretian C, Stolze K, Wen D. Quality aspects of coffees and teas: application of electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy to the elucidation of free radical and other processes. *Agricultural Sciences*. 2013;4(8):433–442. DOI: 10.4236/as.2013.48058.
14. Villamena FA. *Reactive species detection in biology: from fluorescence to electron paramagnetic resonance spectroscopy*. Amsterdam: Elsevier; 2016. X, 330 p.
15. Sahu ID, Lorigan GA. EPR techniques, spin labeling and spin trapping. In: Worsfold P, Poole C, Townshend A, Miró M, editors. *Encyclopedia of analytical science*. 3rd edition. Amsterdam: Elsevier; 2019. p. 315–327. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14080-6.
16. Brückner A. *In situ* electron paramagnetic resonance: a unique tool for analyzing structure – reactivity relationships in heterogeneous catalysis. *Chemical Society Reviews*. 2010;39(12):4673–4684. DOI: 10.1039/b919541f.
17. Rhodes CJ. Electron spin resonance. Part one: a diagnostic method in the biomedical sciences. *Science Progress*. 2011;94(1):16–96. DOI: 10.3184/003685011X12982218769939.

18. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 5th edition. Oxford: Oxford University Press; 2015. XXXVIII, 905 p. DOI: 10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001.
19. Mertens T, Kunz T, Gibson BR. Transition metals in brewing and their role in wort and beer oxidative stability: a review. *Journal of the Institute of Brewing*. 2022;128(3):77–95. DOI: 10.1002/jib.699.
20. Kroneck PMH. Multiheme proteins and enzymes: from spectroscopy to three-dimensional structure. In: *Abstracts of the 5th Workshop on EPR applications in biology and medicine; 2001 September 29 – October 3; Krakow, Poland*. [S. l.]: [s. n.]; 2001. p. 39.
21. Hanson G, Berliner L, editors. *Metals in biology: applications of high-resolution EPR to metalloenzymes*. New York: Springer; 2010. XIX, 419 p. (Biological magnetic resonance; volume 29). DOI: 10.1007/978-1-4419-1139-1.
22. Kunz T, Methner F-J, Huttermann J, Kappl R, inventors; Technische Universität Berlin, assignee. *Method for determining the endogenous antioxidative potential of beverages by means of ESR spectroscopy*. United States patent US 2008/0248580 A1. 2008 October 9.
23. Andersen ML, Skibsted LH. ESR spectroscopy for the study of oxidative processes in food and beverages. In: Webb GA, editor. *Modern magnetic resonance*. Dordrecht: Springer; 2008. p. 1861–1866. DOI: 10.1007/1-4020-3910-7_212.
24. Uchida M, Suga S, Ono M. Improvement for oxidative flavor stability of beer – rapid prediction method for beer flavor stability by electron spin resonance spectroscopy. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 1996;54(4):205–211. DOI: 10.1094/ASBCJ-54-0205.
25. Porcu MC, Fadda A, Sanna D. Lag time determinations in beer samples. Influence of alcohol and PBN concentration in EPR spin trapping experiments. *Oxygen*. 2022;2(4):605–615. DOI: 10.3390/oxygen2040040.
26. Cortés N, Kunz T, Furukawa Suárez A, Hughes P, Methner F-J. Development and correlation between the organic radical concentration in different malt types and oxidative beer stability. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2010;68(2):107–113. DOI: 10.1094/ASBCJ-2010-0412-01.
27. Polak J, Bartoszek M, Stanimirova I. A study of the antioxidant properties of beers using electron paramagnetic resonance. *Food Chemistry*. 2013;141(3):3042–3049. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.05.133.
28. Vanderhaegen B, Neven H, Verachtert H, Derdelinckx G. The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chemistry*. 2006;95(3):357–381. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.01.006.
29. Fromuth K, Chaparro JM, Sedin D, Van Buiten C, Prenni JE. Characterizing the impact of package type on beer stability. *ACS Food Science and Technology*. 2023;3(4):616–625. DOI: 10.1021/acsfoodscitech.2c00351.
30. Wietstock PC, Glattfelder R, Garbe L-A, Methner F-J. Characterization of the migration of hop volatiles into different crown cork liner polymers and can coatings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016;64(13):2737–2745. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00031.
31. de Lima AC, Aceña L, Mestres M, Boqué R. Monitoring the evolution of the aroma profile of lager beer in aluminium cans and glass bottles during the natural ageing process by means of HS-SPME/GC-MS and multivariate analysis. *Molecules*. 2023;28(6):2807. DOI: 10.3390/molecules28062807.

Получена 29.05.2024 / исправлена 29.05.2024 / принята 31.05.2024.
Received 29.05.2024 / revised 29.05.2024 / accepted 31.05.2024.