

# 蛋白酶对酱香型白酒中杂油醇含量的影响研究

孙金旭, 朱会霞

(衡水学院生命科学系, 河北衡水 053000)

**摘要:** 酱香型白酒发酵过程中, 研究的蛋白酶添加量对杂油醇生成的影响, 结果表明: 蛋白酶添加量对杂油醇的生成有一定的影响, 在 0~20 U/g 范围内, 杂油醇生成量随蛋白酶添加量的增加而降低, 蛋白酶为 20 U/g 时, 杂油醇生成量最低为 0.231 g/L, 相对于未添加蛋白酶降低 60.52%, 添加量超过 20 U/g 时, 杂油醇生成量随蛋白酶添加量的增加而增加, 各杂油醇单体(异丁醇、正丙醇、异戊醇)变化趋势和总杂油醇变化趋势相似。

**关键词:** 蛋白酶; 杂油醇; 白酒

**文章篇号:** 1673-9078(2012)9-1146-1148

## The Effect of Protease on Fusel Oil in Wine

SUN Jin-xu, ZHU Hui-xia

(Department of Biology, Heng shui College, Hengshui 053000, China)

**Abstract:** The effect of protease on fusel oil in wine was studied after the fermentation of wine and the results showed that the content of fusel oil in wine was reduced by increasing the protease dosage within 0~20 U/g range. When the dosage of protease was 20 U/g, the content of fusel oil was 0.231 g/L, which was reduced by 60.52%. When the dosage of protease was more than 20 U/g, the content of fusel oil increased with the increasing protease dosage. The changing tendency of isoamylol, isobutyl alcohol and propunol was similar with fusel oil.

**Key words:** propunol; fusel oil; wine

中国白酒品种繁多, 历史悠久, 因其酒色晶莹剔透、香气馥郁纯正、酒体协调、口味醇厚绵柔而备受人们的青睐。杂油醇为白酒中的三大呈香类物质之一, 在白酒中必不可少, 但当酒体中杂油醇含量过高不仅会导致人体的麻醉和中毒, 而且还会对白酒的质量有一定的影响<sup>[1-4]</sup>, 本文研究了酱香型白酒发酵过程中, 蛋白酶添加量对杂油醇形成的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

正丙醇、异丁醇、异戊醇(分析纯; 购于国家标准物质网)

#### 1.2 仪器

气相色谱仪(Agilent HP6890N 安捷伦公司); N<sub>2</sub>(永腾气体 天津销售有限公司); 氢气发生器(SHC-3 北京华盛普信仪器有限责任公司); H<sub>2</sub>发生器(北京汇佳精仪工贸有限公司); 气相色谱柱(FFAP 安捷伦公司)。

#### 1.3 方法

##### 1.3.1 正丙醇、异丁醇、异戊醇标准液配制<sup>[5]</sup>

##### 1.3.1.1 定性分析

分别称取一定量的以上各醇色谱级标准品, 用

60%乙醇溶解, 待溶解后用微孔过滤器过滤处理, 气相色谱法定性测定各醇及内标物。

经处理后的混标物, 利用 GC 在特定条件下, 各杂油醇及内标物分离图谱及出峰时间如表 1 所示。

表 1 杂油醇和内标的保留时间

Table 1 Retention time of different fusel oils

名称	出峰顺序			
	1	2	3	4
	叔戊醇	正丙醇	异丁醇	异戊醇
保留时间/min	7.22±0.20	8.72±0.25	12.06±0.19	15.52±0.20

##### 1.3.1.2 定量分析

因在本研究前期实验研究中, 酱香型白酒中的正丁醇、2-丁醇含量极低, 基本上可以忽略不计, 因此, 本实验研究 2 种物质含量未予以考虑, 分别称取一定量的各醇类色谱纯标准品, 同放入 100 mL 容量瓶中, 60%乙醇定容, 分别称取一定量的色谱级正丙醇、异丁醇、叔戊醇、异戊醇标准品, 放置于容量为 100mL 的容量瓶中, 60%乙醇溶解并定容, 用移液枪分别移取以上混标样 1、2、4、8、10 mL 于 10 mL 容量瓶中, 60%乙醇定容, 得到各组混标样, 各组标品浓度表如表 1 所示。经处理后的不同浓度的混标物, 添加内标物后, 分别利用 GC 法测定, 测定后以各杂油醇标品峰面积和内标物峰面积之比为纵坐标, 以各杂油醇含

量和内标物含量之比为横坐标, 经绘制标准曲线后分别得到各杂油醇标品的回归方程及相关系数 R 值, 结果如表 2、3 所示。

表 2 杂油醇标准品浓度梯度

**Table 2 The concentrations of the standards**

杂油醇	混标 1	混标 2	混标 3	混标 4	混标 5
正丙醇	0.1528	0.3056	0.6112	1.2224	1.5280
异丁醇	0.0538	0.1076	0.2152	0.4304	0.5380
异戊醇	0.1126	0.2252	0.4504	0.9008	1.1260

表 3 杂油醇标准品曲线方程

**Table 3 The curve equation for fusel oils**

标品	曲线方程	R 值
正丙醇	$Y=1.0386X-0.0385$	0.9983
异丁醇	$Y=1.1326X-0.0038$	0.9956
异戊醇	$Y=1.3928X-0.0365$	0.9992

### 1.3.1.3 内标溶液的配制

称取一定量的叔戊醇标准品, 用 60% 乙醇溶解后置于 100 mL 容量瓶中, 定容至刻度, 测定时, 量取内标物 100  $\mu$ L 添加入待测样品中, 使样品中的内标物的浓度达到 0.1758 g/L。

### 1.3.2 气相色谱测定条件<sup>[6,7]</sup>

样品进样方式: 样品无须处理直接进样; 检测器: FID 检测器; 色谱柱: HP-FFAP(30.0 m $\times$ 1.00  $\mu$ m $\times$ 530.00  $\mu$ m); 气化室温度: 200  $^{\circ}$ C; 检测器温度: 240  $^{\circ}$ C; 进氧量: 0.1  $\mu$ L; 柱压: 4.00 psi; 分流比: 20:1; 氢气流速: 30 mL/min; 空气流速: 350 mL/min; 尾吹: 35 mL/min。

程序升温程序: 35 $^{\circ}$ C 保温 9min, 然后以 3.5 $^{\circ}$ C/min 升至 45 $^{\circ}$ C, 再 10 $^{\circ}$ C/min 的速率升至 100 $^{\circ}$ C, 保持 4min, 再以 22 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 210 $^{\circ}$ C, 保持 5min。

### 1.3.3 蛋白酶活力的测定

比色法测定蛋白酶活力<sup>[5]</sup>

### 1.3.4 白酒样品发酵生产工艺



### 1.3.5 不同量蛋白酶添加实验

试验中, 酵母添加量 2%, 大曲粉 10%, 蛋白酶用量分别为 0、10、20、30、40、50、60 U/g 高粱粉, 发酵温度 30  $^{\circ}$ C, 发酵 30 d 后出料蒸酒, 气相色谱法测定各杂油醇含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 蛋白酶对杂油醇总量的影响

实验研究中, 其它曲粉添加量 8%, 在几组发酵实验中分别添加蛋白酶 0、10、20、30、40、50、60 U/g, 发酵入池温度 30  $^{\circ}$ C, 发酵周期 28 d, 结束后气相色谱测定各杂油醇含量, 结果如图 1 所示。

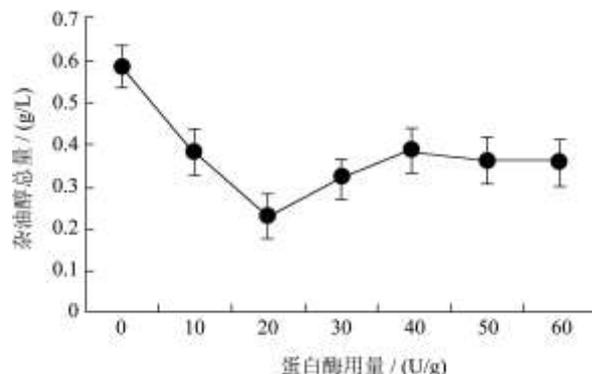


图 1 蛋白酶对杂油醇总量的影响

Fig.1 The protease effect on fusel oil in wine

由图 1 可知, 随蛋白酶的添加, 杂油醇不断降低, 当蛋白酶添加量为 20 U/g 时, 杂油醇含量降至最低, 为 0.231 g/L, 相对于未添加蛋白酶降低 60.52%, 之后随蛋白酶添加量的增加杂油醇含量也不断增加, 当蛋白酶添加量为 40 U/g 时, 杂油醇含量升至较高点, 之后, 随蛋白酶的增加, 杂油醇含量出现降低的趋势, 但降幅不大。分析原因为氨基酸为蛋白酶的分解产物, 根据杂油醇的生成机制, 当酒醅中的氨基酸含量高于适应值时, 有助于杂油醇的生成, 蛋白酶添加量较低时, 蛋白酶分解得到的氨基酸于酵母发酵需求相适应, 没有多余氨基酸参与杂油醇的生成, 杂油醇的生成量降低, 当蛋白酶的添加量超过一定值时, 就会过多的分解得到氨基酸, 过量的氨基酸参与到杂油醇的生成过程, 使得杂油醇生成量增加。

### 2.2 蛋白酶对正丙醇的影响

其它曲粉添加量 8%, 在几组发酵实验中分别添加蛋白酶 0、10、20、30、40、50、60 U/g, 发酵入池温度 30  $^{\circ}$ C, 发酵周期 28 d, 结束后气相色谱测定正丙醇含量, 结果如图 2 所示。

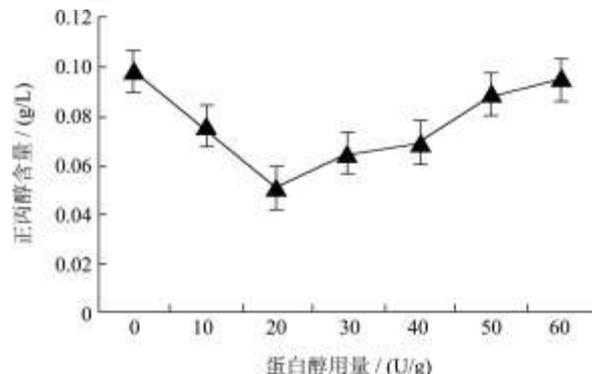


图 2 蛋白酶对正丙醇的影响

Fig.2 The protease effect on n-propanol in wine

由图2可知,和总杂油醇含量变化趋势相似,开始随蛋白酶添加量的增加,杂油醇含量有所降低,当蛋白酶添加量为20 U/g时,正丁醇含量降至最低,其含量为0.051 g/L,和未添加蛋白酶相比,相对降低46.96%,之后随蛋白酶添加量的增加,杂油醇含量有上升的趋势,当蛋白酶添加量为60 U/g时,正丁醇含量升至0.095 g/L,变化原因和总杂油醇相似。

### 2.3 蛋白酶对异戊醇的影响

酱香型白酒发酵过程中,曲粉添加量8%,在几组发酵实验中分别添加蛋白酶0、10、20、30、40、50、60 U/g,发酵入池温度30℃,发酵周期28 d,结束后气相色谱测定异戊醇含量,结果如图3所示。

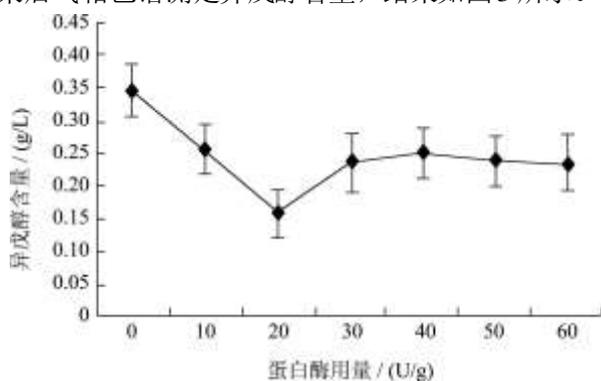


图3 蛋白酶对异戊醇的影响

### Fig.3 The protease effect on isoamylol in wine

酱香型白酒发酵过程中,异戊醇为杂油醇的主要物质,其产生量高于其它杂油醇类,由图3可知,一定量的蛋白酶能够抑制异戊醇的产生,开始随蛋白酶添加量的增加,杂油醇含量逐渐降低,蛋白酶添加量为20 U/g时,异戊醇含量降至最低,为0.158 g/L,相对降低54.33%,之后随蛋白酶的添加,异戊醇含量逐渐升高,添加量为40 U/g后异戊醇含量有下降的趋势,但降低的幅度不大。

### 2.4 蛋白酶对异丁醇的影响

异丁醇含量是酱香型白酒发酵过程中仅次于异戊醇的杂油醇类物质,在几组发酵实验中分别添加蛋白酶0、10、20、30、40、50、60 U/g,发酵入池温度30℃,发酵周期28 d,结束后气相色谱测定异丁醇含量,结果如图4所示。

由图4可知,和其它几种杂油醇类物质的变化趋势相似,开始随蛋白酶添加量的增加,异丁醇含量大幅下降,当蛋白酶添加量为20 U/g时,正丁醇含量降至最低,为0.062 g/L,相对于未添加蛋白酶降低了55.07%,之后随蛋白酶添加量的增加,异丁醇含量有逐渐上升的趋势,添加量为40 U/g时,异丁醇含量升至最高,之后逐渐下降,但降幅不大。

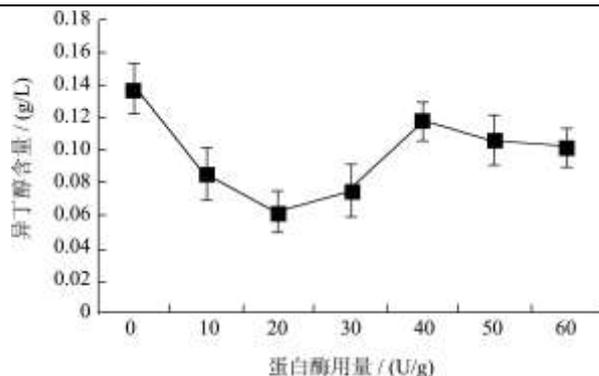


图4 蛋白酶对异丁醇总量的影响

### Fig.4 The protease effect on isobutyl alcohol in wine

## 3 结论

杂油醇为一种高沸点、淡黄色的透明液体混合物,主要包括正丙醇、异戊醇、异丁醇等,因其易溶于酒精而不溶于水,当白酒酒精度较低时,杂油醇类似油状出现,因此被称之为杂油醇,酱香型白酒发酵过程中研究了蛋白酶添加量对杂油醇生成的影响,结果表明,蛋白酶添加量对杂油醇的生成有一定的影响,在0~20 U/g范围内,杂油醇生成量随蛋白酶添加量的增加而降低,蛋白酶为20 U/g时,杂油醇生成量最低为0.231 g/L,相对于未添加蛋白酶降低60.52%,添加量超过20 U/g时,杂油醇生成量随蛋白酶添加量的增加而增加,各杂油醇单体(异丁醇、正丙醇、异戊醇)变化趋势和总杂油醇变化趋势相似。

## 参考文献

- [1] 詹汉林. 新型米香型白酒曲种的研制和应用[J]. 现代食品科技, 2009, 25(7): 813-815
- [2] 王传荣, 沈洪涛. HACCP在浓香型白酒酿造中的应用探讨[J]. 现代食品科技, 2009, 26(6): 639-640
- [3] Cullere L, Escudero A, Cacho J. et al. Gas chromatography and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 6: 1653-1660
- [4] 汪江波, 郭健. 啤酒酿造过程中的高级醇[J]. 湖北工学院学报, 2003, 3: 75-77
- [5] 王立钊. 固态白酒工艺中杂油醇生成影响因子的研究[D]. 河北农业大学, 2007: 23-28
- [6] 孙金旭, 朱会霞, 杨晓红, 等. 酵母添加量对酱香型白酒中杂油醇影响[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(12): 67-69
- [7] 陈晶红, 赵越, 韩睿明. 酒中杂油醇测定方法的改进[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(1): 128