

糖化酶用量对酱香型白酒杂油醇的影响研究

孙金旭

(衡水学院生命科学系, 河北衡水 053000)

摘要: 研究了糖化酶对酱香型白酒发酵中杂油醇的影响, 结果表明: 酱香型白酒发酵中糖化酶对杂油醇生成量较大的抑制作用, 和未添加糖化酶相比, 糖化酶添加 2×10^3 U/g 时, 正丁醇、正丙醇、2-丁醇、异戊醇、异丁醇分别降低了 57.22%、43.92%、72.38%、44.38% 和 90.75%, 杂油醇总量降低了 48.28%, 添加糖化酶对控制酱香型白酒发酵产生杂油醇效果明显。

关键词: 白酒; 糖化酶; 杂油醇

文章篇号: 1673-9078(2013)1-73-76

Effect of Saccharifying Enzyme on Fusel Oil Content in wine

SUN Jin-xu

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

Abstract: The effect of saccharification enzyme on fusel oil in wine was studied. The results showed that the saccharification enzyme could inhibit the producing of fusel oil. When the adding content of saccharification enzyme was 2×10^3 U/g, the contents of n-butyl alcohol, propanol, butanol, isoamyl 2 alcohol and isobutyl alcohol were decreased by 57.22%, 43.92%, 72.38%, 44.38% and 90.75%, respectively. Miscellaneous alcohol gross reduced by 48.28% compared with that without adding saccharifying enzyme. The results indicate that fusel oil in wine could be inhibited obviously through adding saccharifying enzyme.

Key words: fermentation; fusel oil; saccharifying enzyme

杂油醇为三碳以上一元醇类物质的总称, 该类物质透明、沸点高, 呈现淡黄色至棕褐色, 其主要成分为活性戊醇、辛醇、仲丁醇、戊醇、苯乙醇、异戊醇、异丁醇、正丙醇、正丁醇等高级醇类, 因该类物质不溶于水而易溶于酒精, 当酒精度较低时呈现类似油状物, 高级醇被视为酒精工业上的杂质, 因此, 将该类物质统称为“杂醇油”^[1-2]。

杂油醇是白酒中的主要呈香物质之一, 但是白酒中杂油醇含量过高不仅会影响白酒的质量 (能够引起白酒的写杂味, 和低度白酒的沉淀), 同时还会影响人体神经系统导致人头痛, 所以如何降低白酒发酵中杂油醇含量已成为白酒发酵研究中的一大课题^[3-4], 本实验通过控制酱香型白酒发酵过程中糖化酶的添加量来讨论糖化酶对杂油醇产生的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

正丁醇、正丙醇、异丁醇、2-丁醇、叔戊醇、异戊醇 (分析纯; 购于国家标准物质网)。

1.2 仪器

收稿日期: 2012-06-14

作者简介: 孙金旭 (1975-), 男, 博士, 副教授, 主要从事发酵工程、功能性食品的研究

气相色谱仪 (Aglient HP6890N 安捷伦公司); N_2 (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_2 发生器 (北京汇佳精工工贸有限公司); 气相色谱柱 (FFAP 安捷伦公司)。

1.3 方法^[5]

1.3.1 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。

1.3.2 定量分析

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丁醇、正丁醇、正丙醇、异丁醇、2-丁醇、叔戊醇、异戊醇标准品, 放置于容量为 100 mL 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 3 所示。
各杂油醇标品的回归方程及相关系数 R 值, 结果如表

表 1 杂油醇和内标的保留时间

Table 1 Retention time of different fusel oils

出峰顺序	1	2	3	4	5	6
名称	叔戊醇	2-丁醇	正丙醇	异丁醇	正丁醇	异戊醇
保留时间/min	7.22±0.20	7.91±0.20	8.72±0.25	12.06±0.19	13.90±0.15	15.52±0.20

表 2 杂油醇标准品浓度梯度

Table 2 The concentration of standards

	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	1.528
正丁醇	0.0612	0.1224	0.2448	0.4896	0.612
异丁醇	0.0538	0.1076	0.2152	0.4304	0.538
2-丁醇	0.0455	0.091	0.182	0.364	0.455
异戊醇	0.1126	0.2252	0.4504	0.9008	1.126

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
正丁醇	Y=1.3085X-0.0159	0.9992
正丙醇	Y=1.0386X-0.0385	0.9983
异丁醇	Y=1.1326X-0.0038	0.9956
2-丁醇	Y=0.8587X-0.0071	0.9991
异戊醇	Y=1.3928X-0.0365	0.9992

1.3.3 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 μL 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。

1.3.4 气相色谱测定条件^[6,7]

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×1.00 μm×530.00 μm); 气化室温度: 200 °C; 检测器温度: 240 °C; 进氧量: 0.1 μL; 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: 35°C 保温 9min, 然后以 3.5 °C/min 升至 45°C, 再 10 °C/min 的速率升至 100 °C, 保持 4 min, 再以 22°C/min 的速率升温至 210 °C, 保持 5 min。

1.3.5 糖化力的测定^[8]

准确称取固体干曲 5.0 g, 置于烧杯中, 添加 100 mL 水和乙酸-乙酸钠缓冲液 (比例 9:1), 摇匀后静置于 30 °C 水浴浸提 1 h, 浸提过程中, 间隔 15 min 摇匀一次, 脱脂棉过滤后的滤液为 5% 的糖化曲浸出液, 吸取 2% 的可溶性淀粉液 25 mL 于 50 mL 容量瓶中, 在 30°C 水浴预热 10 min, 添加 5 mL 固体曲浸出液,

摇匀后开始计时, 30 °C 保温糖化 1 h, 添加 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液 15 mL, 冷却至室温后用蒸馏水定容至刻度, 另按以上步骤将 NaOH 溶液和固体曲浸出物颠倒顺序, 作为空白对照, 10 mL 斐林试剂中加入空白液或糖化液各 5 mL, 用 0.1% 标准葡萄糖液滴定至终点。计算固体曲糖化酶活力。计算公式如下:

$$Z = (V_0 - V_1) \times C \times \frac{50}{5} \times \frac{100}{5} \times \frac{1}{A} \times 1000$$

注: Z-化酶活力 (U/mL); V₀-5 mL 空白液消耗 0.1% 标准葡萄糖溶液体积 (mL); V₁-5 mL 糖化液消耗 0.1% 标准葡萄糖溶液体积 (mL); C-标准葡萄糖溶液浓度 (g/mL); 50/5-5 mL 糖化液按浓缩十倍后的糖量 (g); 100/5-5 mL 浸出液浓缩 20 倍浸出液中的糖量 (g); A-绝干曲称取量; 1000-单位转换。

经测定所用糖化酶活力 1×10⁵ U/mL。

1.3.6 白酒样品发酵生产工艺

白酒样品发酵生产的工艺见文献^[7]。

1.3.7 不同量糖化酶添加试验

试验中, 酵母添加量 2%, 大曲粉 10%, 糖化酶用量分别为 0、5×10²、1×10³、2×10³、3×10³、4×10³ U/g 高粱粉, 发酵温度 30 °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 不同添加量糖化酶对杂油醇总量的影响

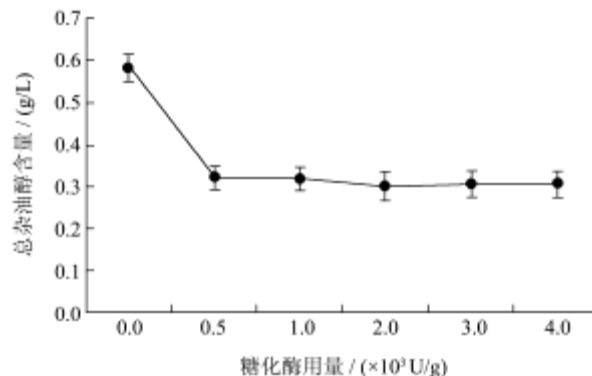


图 1 糖化酶添加对杂油醇总量的影响

Fig.1 The saccharifying enzyme effect to fusel oil in wine

酱香型白酒发酵过程中, 糖化酶添加量分别为 0、5×10²、1×10³、2×10³、3×10³、4×10³ U/g, 待发酵结束后, 测定酒样中杂油醇总量含量, 结果如图 1 所示。

如图 1 所示, 酒样中总杂油醇含量随糖化酶添加量的增加而降低, 但糖化酶添加量和酒样中总杂油醇降低量不呈正相关, 添加糖化酶后总杂油醇降低幅度较大, 但各糖化酶添加量下, 总杂油醇变化幅度不大, 相比之下, 2×10^3 U/g 糖化酶的添加, 总杂油醇含量最低, 含量为 0.301 g/L, 相对于未添加糖化酶, 总杂油醇降低了 48.28%, 表明糖化酶的添加对酱香型白酒中的总杂油醇有控制作用。

2.2 不同添加量糖化酶对正丙醇的影响

酱香型白酒发酵过程中, 添加不同活力单位的糖化酶 0、 5×10^2 、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 U/g, 发酵结束后, 气相色谱法分别测定各酒样中正丙醇含量, 结果如图 2 所示。

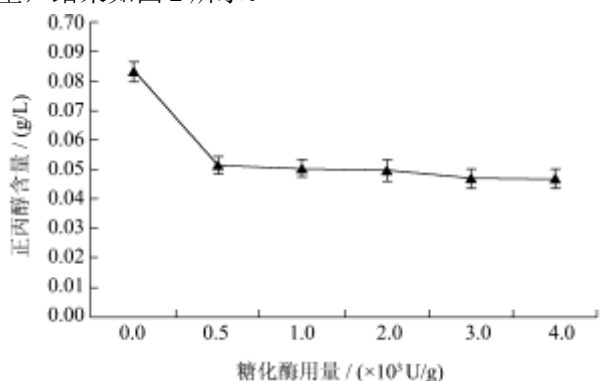


图 2 糖化酶添加对正丙醇的影响

Fig.2 The effect of saccharifying enzyme on propanol in wine

由图 2 可知, 糖化酶添加不同, 酒样中正丙醇含量不同, 未添加糖化酶酒样正丙醇含量最高, 最高含量为 0.0831 g/L, 随糖化酶添加量增加, 正丙醇含量逐渐降低, 相比之下, 糖化酶为 3×10^3 U/g 时, 正丙醇含量最低, 最低含量为 0.0466 g/L, 和未添加糖化酶相比降低 43.92%, 各糖化酶添加量下, 酒样中正丙醇含量相差不大, 相对于其它杂醇类, 酒样中正丙醇含量较低。

2.3 不同添加量糖化酶对异丁醇的影响

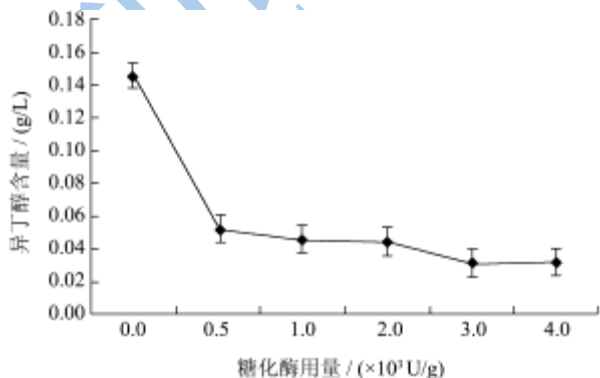


图 3 糖化酶添加对异丁醇的影响

Fig.3 The effect of saccharifying enzyme on isobutyl alcohol in

wine

酱香型白酒发酵过程中, 添加不同活力单位的糖化酶 0、 5×10^2 、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 U/g, 发酵结束后, 气相色谱法分别测定各酒样中异丁醇含量, 结果如图 3 所示。

由图 3 可知, 不同活力单位的糖化酶对各酒样中的异丁醇含量的影响不同, 随糖化酶添加活力单位的增加, 酒样中异丁醇含量逐渐降低, 糖化酶添加活力为 3×10^3 U/g 时, 异丁醇降至 0.0315 g/L, 相对于未添加糖化酶降低 90.75%, 表明糖化酶的添加对降低酱香型白酒中异丁醇含量非常有效。

2.4 不同添加量糖化酶对异戊醇的影响

酱香型白酒发酵过程中, 添加不同活力单位的糖化酶 0、 5×10^2 、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 U/g, 发酵结束后, 气相色谱法分别测定各酒样中异戊醇含量, 结果如图 4 所示。

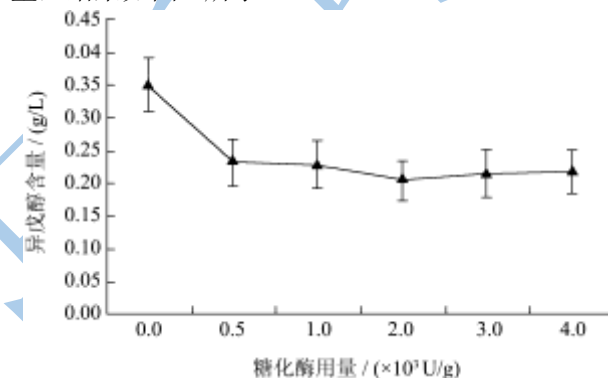


图 4 糖化酶添加对异戊醇的影响

Fig.4 The effect of saccharifying enzyme on isoamylol in wine

由图 4 可知, 不同活力的糖化酶对酱香型白酒发酵后的异戊醇含量影响不同, 随糖化酶添加活力单位的增加, 酒样中异戊醇含量呈现逐渐降低的趋势, 当糖化酶添加活力为 2×10^3 U/g 时, 异戊醇降至 0.203 g/L, 相对于未添加糖化酶降低了 44.38%, 因异戊醇占酱香型白酒中杂油醇的比重较大, 因此, 糖化酶能有效的降低异戊醇含量, 也就相应的降低了总杂油醇的含量。

2.5 不同添加量糖化酶对 2-丁醇影响

酱香型白酒发酵过程中, 添加不同活力单位的糖化酶 0、 5×10^2 、 1×10^3 、 2×10^3 、 3×10^3 、 4×10^3 U/g, 发酵结束后, 气相色谱法分别测定各酒样中 2-丁醇含量, 结果如图 5 所示。

由图 5 可知, 不同活力的糖化酶对酱香型白酒发酵后酒样中的 2-丁醇含量的影响不同, 糖化酶的添加能有效的抑制酒样中 2-丁醇含量, 糖化酶活力为 2×10^3 U/g 时, 2-丁醇降低了 72.38%, 抑制效果明显。

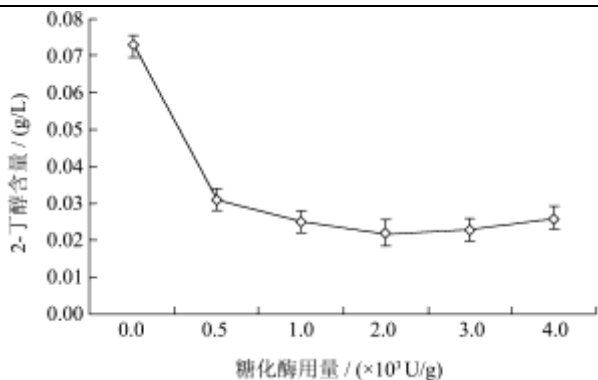


图5 糖化酶添加对2-丁醇的影响

Fig.5 The effect of saccharifying enzyme on 2-butanol in wine

2.6 不同添加量糖化酶对正丁醇的影响

酱香型白酒发酵过程中, 添加不同活力单位的糖化酶, 发酵结束后, 气相色谱法分别测定各酒样中正丁醇含量, 结果如图6所示。

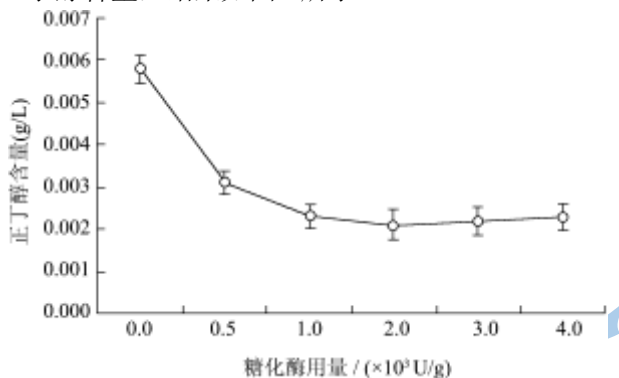


图6 糖化酶添加对正丁醇的影响

Fig.6 The saccharifying enzyme effect to butyl alcohol in wine

由图6可知, 酱香型白酒发酵过程中, 正丁醇产生量较低, 基本上可以忽略, 糖化酶的添加能够有效地降低正丁醇的生成, 糖化酶添加 2×10^3 U/g 时, 正丁醇形成量降低 57.22%。

3 结论

3.1 杂油醇为白酒中的主要呈香物质之一, 但如果杂油醇含量过高不但会影响到白酒的质量, 同时对人体有毒副作用, 因此发酵过程中控制杂油醇含量已经成为控制白酒质量的一大指标。

3.2 酱香型白酒发酵过程中, 通过控制糖化酶的添加量来控制杂油醇的生成量, 结果表明, 酱香型白酒发酵中糖化酶对杂油醇生成量较大的抑制作用, 和未添加糖化酶相比, 糖化酶添加 2×10^3 U/g 时, 正丁醇、正丙醇、2-丁醇、异戊醇、异丁醇分别降低了 57.22%、43.92%、72.38%、44.38% 和 90.75%, 杂油醇总量降低了 48.28%, 添加糖化酶控制酱香型白酒发酵生产杂油醇效果明显。

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] 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
- [4] Cullere L, Escudero A, Cacho J, et al. Gas chromatography of factometry 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
- [5] 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
- [6] 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
- [7] 孙金旭, 朱会霞. 蛋白酶对酱香型白酒中杂油醇含量的影响研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(9): 1146-1148
- [8] 陈晶红, 赵越, 韩睿明. 酒中杂醇油测定方法的改进[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(1): 128