

测定小曲糖化力新方法的探讨

张凤英¹, 吴芝岳², 杨武英¹, 罗秋水¹

(1.江西农业大学食品科学系,江西 南昌 330045;2.浙江贝因美科工贸有限公司,浙江 杭州 310007)

摘要: 新糖化液化力检测方法的操作条件为:在100 mL的三角瓶中加入1.8 g米粉和30 mL水调匀,水浴加热糊化后,冷却到60~65 ℃,加入4 g曲样,搅匀。然后水浴60~65 ℃恒温糖化3~4 h。最后利用手持折光仪测定糖化液的糖度来判断曲的糖化液化力。此法操作简单、测定速度快、结果可靠、测定技术要求不高,可供质量检测监督部门、酒厂及酒曲厂参考使用。(孙悟)

关键字: 小曲; 糖化力; 新方法

中图分类号:TQ920;TQ925.7 文献标识码:B 文章编号:1001-9286(2006)04-0099-03

Investigation on the New Measuring Methods of Xiaoqu Saccharifying Power

ZHANG Feng-ying¹, WU Zhi-yue², YANG Wu-ying¹ and LUO-Qiu-shui¹

(1. Food Science Department of Jiangxi Agriculture University, Nanchang, Jiangxi 330045; 2. Zhejiang Beiyongmei Scientific Industrial Trade Co.Ltd., Hangzhou, Zhejiang 310007, China)

Abstract: The operation of the new measuring methods of Xiaoqu saccharifying power was as follows: adding 1.8 g rice flour in 100 mL triangle flask and blending with 30 mL water, then heating by water bathing, then cooling till temperature dropped at 60~65 ℃, and then adding 4 g Xiaoqu samples for blending, after 60~65 ℃ water bathing and 3~4 h constant temperature saccharification, the saccharifying power finally judged through the measurement of the sugar content of saccharifying solution by hand refractometer. The method could be used in quality supervision departments, distilleries and starter-making plants because it had the advantages including simple operation, rapid measurement, reliable measuring results, and low-level technical requirements. (Tran. by YUE Yang)

Key words: xiaoqu starter; saccharifying power; new methods

采用最快捷、最简单、最经济、最准确的检测方法,是酒曲质量监督的一项重要内容。目前,测定糖化力应用较广泛的方法就是斐林定糖法^[1],其原理就是用曲浸出之酶液使可溶性淀粉水解为葡萄糖,葡萄糖与斐林试剂反应,将二价铜在碱性条件下还原成一价的铜,后者与黄血盐生成不沉淀的络合物,用次甲基蓝为指示剂确定反应终点。定糖法的影响因素很多,且操作繁琐、时间长,测定技术要求高。而且测定结果还有较大的差异。

本文探讨了直接用小曲糖化米粉糊的新方法检测小曲的糖化、液化力,研究测定小曲的糖化、液化力的测定条件,并与传统斐林定糖法测糖化酶活力法进行了比较,并验证新方法的实用性、可靠性。

1 材料与方法

1.1 材料

早米、糯米:市售;酒曲样12种:分别购自全国各

地;0.1%葡萄糖溶液,pH4.6醋酸钠缓冲溶液,斐林试剂甲、乙液,0.1 mol 氢氧化钠溶液等:由实验室配制。

1.2 仪器

WY060T型手持折光仪;电热恒温水浴锅;干燥箱;JA-2003型上皿电子天平等。

1.3 方法

1.3.1 测定小曲糖化、液化力新方法

在100 mL的三角瓶中加入一定量的米粉和水调匀,水浴加热糊化后,冷却到60~65 ℃,加入适量曲样,搅匀。然后将三角瓶放入水浴锅中60~65 ℃恒温糖化3~4 h。最后通过手持折光仪测定糖化液的糖度来判断曲的糖化、液化力。每个曲样做3次平行实验。

1.3.2 测定小曲糖化液化力新方法的最佳实验参数的确定方法

以加曲量、加米粉浆量、米粉浆浓度3因素做3水平正交实验,确定各曲样糖化力微小差别的实验条件。

收稿日期:2005-10-26

作者简介:张凤英(1964-),女,江西宜春人,硕士生导师,主要从事食品微生物研究,发表论文20余篇。

1.3.3 斐林滴定法^[1]

1.3.3.1 5%曲浸出液的制备

称取 5.0 g 曲,置于 250 mL 烧杯中,加 90 mL 水(水温预先调至 30 ℃)及 10 mL pH4.6 醋酸钠缓冲液,摇匀。在 30 ℃ 恒温水浴中保温浸泡 1 h(在浸泡过程中每隔 15 min 搅拌一次),用脱脂棉过滤,滤液备用。此浸出液 1 mL 中应含 35~50 个酶活力单位,否则应作适当调整稀释。

1.3.3.2 糖化

于甲、乙两支 100 mL 比色管中(或试管),分别加入 2% 可溶性淀粉 25 mL,及 pH4.6 醋酸钠缓冲液 5 mL,置于 30±0.2 ℃ 的恒温水浴中预热至管内溶液达 30 ℃ (10~15 min)。在甲管中准确加入 5 mL 曲浸出液或稀释液(酶活力总量 170~250 个单位),摇匀,在水浴中准确保温糖化 60 min,迅速向甲、乙两管中各加入 15 mL 0.1 N 氢氧化钠溶液,摇匀。用水迅速冷却,并于乙管中补加曲浸出液或稀释液(作为空白对照)。加水定容至 50 mL,摇匀。

1.3.3.3 滴定

吸取斐林试剂甲、乙各 5 mL,置于 100~150 mL 三角瓶中。准确吸取 5 mL 曲糖化液或空白液,亦置于三角瓶中。从滴定管中预先加入一定量的 0.1% 标准葡萄糖溶液(其量控制在最后滴定时消耗 0.1% 标准葡萄糖溶液 1 mL 以内),摇匀,置电炉上加热至沸,立即用 0.1% 的标准葡萄糖溶液滴定至蓝色消失,溶液呈浅黄色。此滴定操作应该在 1 min 内完成,其消耗 0.1% 的标准葡萄糖溶液应控制在 1 mL 以内。

$$\text{糖化酶活力} = (V_0 - V \times C \times (50/5)) \times (100/5) \times (1/W) \times 1000$$

式中:C——标准葡萄糖溶液的浓度(g/mL);

V_0 ——加 5 mL 空白液后消耗 0.1% 标准葡萄糖溶液的体积(mL);

V ——加 5 mL 曲糖化液后消耗 0.1% 标准葡萄糖溶液的体积(mL);

W ——绝干曲称取量。

1.3.4 酿酒验证法^[2]

称糯米 100 g,用纱布包好,用水浸泡 4 h,蒸熟,淋冷,装入烧杯中,称取 0.5 g 酒曲,搅拌均匀,盖好,30 ℃ 糖化发酵 24~30 h。然后用糖度计测定酒液的糖度,并测滤出酒液的重量,以糖度和酒液的重量的乘积来表示曲的糖化力。

2 结果与分析

2.1 测定小曲糖化液化力新方法的实验参数的确定

为找出能够分辨各曲样糖化力微小差别的实验条

件。笔者根据预备实验数据,设定 3 个参数:加曲量、加米粉浆量、米粉浆浓度,做 3 因素 3 水平的正交实验,正交设计见表 1,正交实验结果见表 2。

表 1 实验参数正交设计

项目	指标		
A(加曲量, g)	2	3	4
B(加米粉浆量, mL)	30	40	50
C(米粉浆浓度, %)	2	4	6

表 2 正交实验结果

组号	因素			糖度
	A	B	C	
1	2	30	2	2.1
2	2	40	4	3.0
3	2	50	6	3.4
4	3	50	2	1.8
5	3	30	4	5.1
6	3	40	6	3.6
7	4	30	6	8.0
8	4	40	2	3.1
9	4	50	4	3.9

从表 2 可看出,第 7 组实验测出的糖度数值最大,这样测定质量参差不齐的曲样就有了较大的差异空间,即该组参数是能够分辨各曲样糖化力微小差别的最适实验参数。即加曲量为 4 g,加米粉浆量为 30 mL,米粉浆浓度为 6%。

所以检测小曲的糖化液化力新方法可定为:在 100 mL 的三角瓶中加入 1.8 g 米粉和 30 mL 水调匀,水浴加热糊化后,冷却到 60~65 ℃,加入 4 g 曲样,搅匀。然后将三角瓶放入水浴锅中 60~65 ℃ 恒温糖化 3~4 h。最后利用手持折光仪测定糖化液的糖度来判断曲的糖化液化力。

2.2 新的测定方法的应用

为验证上述检测小曲的糖化液化力参数和方法是否可靠,笔者用 12 个曲样来做测定比较实验。实验结果见表 3。

表 3 新方法测定 12 种曲样糖化力结果

曲样号	糖度(Bx)	排序	曲样号	糖度(Bx)	排序
1	8.8	5	7	8.7	6
2	6.2	9	8	5.0	12
3	8.0	8	9	5.8	11
4	8.6	7	10	14.2	1
5	6.0	10	11	11.0	2
6	9.0	4	12	10.5	3

从表 3 可看出,12 种曲样的糖化力高低排序为:10>11>12>6>1>7>4>3>2>5>9>8。

2.3 用斐林定糖法检测 12 种曲样的糖化酶活力

为确定上述新测定方法的可行性,笔者同时用斐林

定糖法测定了上述 12 个曲样的糖化酶活力,并对 12 个曲样糖化酶活力进行了排序比较。测定结果见表 4。

表 4 12 种曲样的糖化酶活力测定结果

曲样号	糖化酶活力 (u/g)	排序	曲样号	糖化酶活力 (u/g)	排序
1	87.2	3	7	82.0	4
2	46.4	7	8	36.8	8
3	80.0	5	9	36.4	9
4	32.0	10	10	98.8	1
5	31.2	11	11	90.5	2
6	76.0	6	12	82.0	4

由表 4 可见,斐林定糖法检测 12 种曲样的糖化力高低排序为:10>11>1>7,12>3>6>2>8>9>4>5;而新的测定方法排序为:10>11>12>6>1>7>4>3>2>5>9>8,显而易见,两种方法测定结果排序差异较大。为此,还无法确定哪种方法的测定结果更可靠。

2.4 酿酒实验结果

上述两种方法到底哪种方法的测定结果更准确、更可靠?为了得出正确的结论,笔者再用这 12 个曲样做一次酿酒实验,以酒液的糖度和酒液的重量的乘积来表示曲的糖化力,通常这也是判断一种酒曲质量好坏的最可靠的方法,此法缺点是所需时间太长,需 1.5~2 d 才能出结果。实验结果数据见表 5。

由表 5 可看出,12 种曲样的糖化力高低排序为:10>11>12>6>1>7>4>3>2>9>5>8,新的测定方法排序为:10>11>12>6>1>7>4>3>2>5>9>8,显而易见,两种方法测定结果排序基本一致。因此,可基本确定新方法的测定结果是比较可靠的。

2.5 3 种方法测定结果的比较

用 3 种方法测定 12 个曲样的糖化力结果的排序情况见表 6。

因为一般认为酿酒检测法是判断一种酒曲质量好坏最可靠的方法,所以在本研究中笔者以此方法为参照来判断另两种方法的测定结果是否可靠、准确。

从表 6 可看出,本文研究的新测定方法和酿酒检测法比较,12 个曲样中只有 5 号曲和 9 号曲的排序有偏差,另 10 个曲样的糖化力大小排序一致,即新测定方法和酿酒检测法有较好的相关性,其相关性达 83.3%。

斐林定糖法与酿酒检测法比较,12 个曲样中只有 10 号、9 号、11 号曲的排序有相关性,其余 9 个样的检测结果之间都有一定的偏差。因此可知斐林定糖法和酿酒检测法相关性较差,其相关性只有 25%。

2.6 3 种测定方法优劣比较(表 7)

表 5 12 种曲样的酿酒实验结果

曲样号	含糖量 (%)	酒液量 (g)	糖化力(g)	排序
1	44.8	122	54.7	5
2	46.1	102	47.0	9
3	40.8	120	49.0	8
4	44.8	110	49.2	7
5	36.7	114	41.8	11
6	43.7	127	55.4	4
7	44.7	114	51.0	6
8	38.4	106	40.7	12
9	39.8	113	45.0	10
10	46.8	130	60.8	1
11	46.1	128	59.0	2
12	45.0	126	56.7	3

表 6 3 种方法测定结果的比较

项目	糖化力高低排序
新的测定法	10>11>12>6>1>7>4>3>2>5>9>8
酿酒实验	10>11>12>6>1>7>4>3>2>9>5>8
斐林滴定法	10>11>1>7、12>3>6>2>8>9>4>5

从表 7 可看出,本文研究的新测定法是 3 种方法中测定速度最快、实验要求最低、误差相对较小、设备要求较低、操作最简单的方法。

2.7 12 种曲用于白酒生产情况

为确定使用新测定法测定酒曲糖化力时,曲样的糖化力测定数值在哪个范围才达到行内认可的质量要求,笔者用这 12 种曲样做了酿造白酒的生产实验,每个曲样投 3 批次 50 kg 大米,取平均值,结果见表 8。

表 8 表明,应用快速测定法测定小曲糖化力,如达到 8.0 以上,则此曲用于酿酒时,50 kg 大米可产 36 度白酒 50 kg 以上,达到市场对小曲质量的基本要求^[9]。

3 结论

3.1 本文所研究的新糖化液力检测方法的操作为:在 100 mL 的三角瓶中加入 1.8 g 米粉和 30 mL 水调匀,水浴加热糊化后,冷却到 60~65 °C,加入 4 g 曲样,搅匀。然后将三角瓶放入水浴锅中 60~65 °C 恒温糖化 3~

表 7 3 种测定方法优劣比较

项目	新测定法	酿酒实验法	斐林滴定法
时间 (h)	4~5	24~36	6~7
材料	大米粉	大米	可溶性淀粉、葡萄糖、葡萄糖硫酸铜、酒石酸钾钠、黄血盐、碘、碘化钾、氢氧化钠、醋酸、醋酸钠等
设备	普通天平、水浴锅、糖度计	电炉、蒸饭锅、糖度计	分析天平、数显水浴锅、电炉、数显干燥箱、干燥器等
影响因素	少	少	多
操作难度	简单	简单	较难
操作人员	初中生	初中生	中专生以上
误差	小	小	较大

(下转第 104 页)

mol/L。

3.2.2 直接测定

取浓缩后的啤酒,按照测定标准曲线的条件测定浓缩啤酒,以试剂空白为参比,用2 cm 比色皿多次测量,得啤酒原样中草酸的平均浓度 $0.86 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$,标准偏差 $S=0.014$,变异系数 $CV=1.6\%$ 。

3.2.3 准确度、精密度试验

对已知浓度为 $2.09 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的草酸钠溶液进行测定,结果见表1。5次测定的平均值为 $2.08 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$, $s=0.011$, $CV=0.53\%$ 。误差很小,t检验时, $t=2.03 < t_{\alpha} (t_{0.05,4}=2.78)$,可见该方法的准确度较高。

表1 准确度、精密度试验结果

次数	1	2	3	4	5
吸光度	0.361	0.359	0.357	0.354	0.357
浓度(10^{-3} mol/L)	2.10	2.09	2.08	2.07	2.08

3.2.4 回收试验

在同一啤酒中加入不同浓度的草酸钠溶液,进行多次处理测定,试验数据见表2。

表2的回收试验结果可看出,用该方法测定草酸的回收率在99.0%~100.3%之间,平均回收率为99.6%;而且结果具有一定的重现性。

参考文献:

[1] 李崎,李永仙,顾国贤.啤酒生产中的添加剂与啤酒稳定性的关系[J].酿酒,2004,(4):33-34.

表2 回收率试验结果

(10^{-3} mol/L)

项目	加标量(10^{-3} mol/L)							
	2.09	2.09	2.09	2.09	2.62	2.62	2.62	2.62
样品草酸含量	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86
加标后样品吸光度	0.523	0.519	0.515	0.523	0.613	0.622	0.617	0.615
加标后测定值	2.96	2.94	2.92	2.96	3.44	3.49	3.46	3.45
回收率(%)	100.3	99.7	99.0	100.3	98.9	100.3	99.4	99.1
平均回收率(%)	99.6		99.6					
标准偏差	0.019			0.022				
变异系数(%)	0.64			0.63				

[2] 金娟娟.啤酒的总酸及其测定[J].酿酒科技,2000,(3):56-57.
 [3] 沈友.碘-四氯化碳萃取光度法间接测量痕量草酸根[J].光谱学与光谱分析,1998,18(6):756-758.
 [4] Rao.MSP,Rao.ARM,Rman KV[J].Talanta,1991,38(8):937.
 [5] 段生崇,李继脆,涂于如.单柱离子色谱法测定茶叶草酸含量[J].云南化工,1994,(4):32-34.
 [6] 龙立平.四氧杂四稀衍生物荧光熄灭法测定微量草酸[J].分析实验室,2002,21(1):80-82.
 [7] 冯素玲,陈小兰,樊静,张桂恩.抑制动力学荧光法测定草酸[J].分析化学研究简报,2000,28(5):621-623.
 [8] 陆海勤,黄悦刚.催化光度法测量蔗汁中草酸的研究[J].广西轻工业,2001,(1):52-56.
 [9] Xiao-QinXu,Zhi-QiZhang. Kinetic Spectrophotometric Determination of oxalic acid Based on the Catalytic oxidation of Bromophenol Blue by Dichromate[J].Mikrochimica Acta. 2000,135(3-4):0169-0172.
 [10] P.Canizares,M.D.Lacue de Castro. Enzymatic interference-free assay for oxalate in urine[J].Analytical and Bioanalytical Chemistry,1997,351(6):777-781.

(上接第101页)

表8 12种曲用于白酒生产情况

曲样号	快速测定法(糖化力)	36度白酒产量(g)
1	8.8	103
2	6.2	96
3	8.0	100
4	8.6	101
5	6.0	96
6	9.0	107
7	8.7	103
8	5.0	92
9	5.8	92
10	14.2	113
11	11.0	108
12	10.5	105

4 h。最后利用手持折光仪测定糖化液的糖度来判断曲

的糖化液化力。

3.2 应用此新测定法测定的小曲糖化力如果达到8.0以上,则此曲用于酿酒时:50 kg 大米可产36度酒50 kg以上,就达到市场对小曲质量的基本要求。

3.3 此法操作简单、测定速度快、结果可靠、测定技术要求不高,可供政府质量检测监督部门、酒厂及酒曲厂参考使用,尤其对于技术人员缺乏、设备缺乏的乡镇或个体酒厂、酒曲厂更为实用。

参考文献:

[1] 陈卫平,张凤英.制曲工艺[M].江西:江西科技出版社,1993.
 [2] 顾国贤.酿造酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,1996.
 [3] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,2000.