

紫外分光光度计法检测酿酒糟醅的色度

付 勋¹, 刘兴平^{1,2}, 敖宗华^{1,2}, 张宿义^{1,2}, 刘晓刚², 韩 光², 陕小虎¹, 张玉东³, 郝建宇¹

(1.四川理工学院,四川 自贡 643000;2.泸州老窖股份有限公司,四川 泸州 646100;

3.重庆大学生命科学学院,重庆 400000)

摘要: 目前母糟色度主要是采用感官检测,尚无量化测定方法。采用 16/18 型紫外-可见分光光度计法定量测定母糟色度,测定最佳吸收波长为 314 nm、比色皿 5 cm,测定结果的线性相关系数 r 为 0.9999。以浓香型母糟为原料,75 %vol 的乙醇作为浸提剂,按照 $1/2^n$ 的方式对母糟浸提液稀释后测定其色度,最后将浸提液的色度换算为固态母糟的平均色度。

关键词: 分析检测; 母糟; 色度; 紫外-可见分光光度计

中图分类号:O657.3;TS261.7

文献标识码:A

文章编号:1001-9286(2011)07-0108-04

Determination of the Colority of Fermented Grains by UV Visible Spectrophotometry

FU Xun¹, LIU Xingping^{1,2}, AO Zonghua^{1,2}, ZHANG Suyi^{1,2} and LIU Xiaogang²,

HAN Guang², SHAO Xiaohu¹, ZHANG Yudong² and HAO Jianyu¹

(1.Sichuan University of Science and Engineering, Zigong, Sichuan 643000; 2. Luzhou Laojiao Co.Ltd., Luzhou, Sichuan 646100;

3. College of Life Science of Chongqing University, Chongqing 400000, China)

Abstract: The colority of maternal fermented grains is usually measured by use of senses at present and there is no quantization measuring methods. In this study, 16/18 UV visible spectrophotometry was applied to determine the colority of maternal fermented grains and the related determination conditions were as follows: the best absorption wavelength was 314 nm, 5 cm color container used, and the linear coefficient of the determination results was 0.999. Specifically, maternal fermented grains was used and 75 %vol ethanol was used as leaching agent, then the colority of the extract was determined after multiple dilution of $1/2^n$, finally, the average colority of maternal fermented grains was obtained by converting the colority of the extract.

Key words: analysis and determination; maternal fermented grains; colority; UV visible spectrophotometry

酿酒生产中,母糟的感官检测是对母糟质量评定的一种重要方法,其中对母糟的色泽评判又是感官评判的重要内容之一。但是生产过程感官评判方法因人而异,需要有一定经验,并且各人对色泽的认识、反应不一。因此,感官评价对母糟色泽的评判会产生一定的误差。

目前,相关文献^[1-3]对母糟色度的评判仅局限于感官测评,尚无采用仪器对母糟的色度进行量化测评的相关报道。本文采用紫外-可见分光光度计对母糟的色度进行间接测定,建立量化测定、分析、评判母糟色度的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料

浓香型白酒生产母糟,母糟置保鲜膜中封紧后,放入取样袋,取样后及时测定。

收稿日期:2011-03-07

作者简介:付勋(1988-),男,云南昭通人,发酵工程硕士研究生,主要从事发酵工程研究。

通讯作者:刘兴平(1966-),女,副教授,硕士生导师, lxp_3110059@126.com。

1.1.2 仪器

UV/V-16/18 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)、AL104 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)、TGL-16C 型飞鸽牌离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.1.3 试剂

95 %vol 的乙醇、六水合氯化钴($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、六氯铂酸钾(K_2PtCl_6)、丙酮、石油醚、盐酸($\rho=1.18 \text{ g/mL}$)。

1.2 方法

1.2.1 母糟色素浸提剂的选取

称取 5.00 g 母糟,分别加入 20 mL 的 95 %vol 的乙醇、蒸馏水、丙酮、石油醚 4 种溶剂进行浸泡,比较 4 种溶剂的浸提效果,选出效果较好的作为色素提取溶剂。

1.2.2 溶剂浸提时间确定

各称取 5.00 g 母糟于 4 个 250 mL 的烧杯中,用移液管取 20 mL 1.2.1 节选出的溶剂于 4 个烧杯中,浸泡时间分别为 25 min、30 min、35 min、40 min,过滤。滤液采用紫外-可见分光光度计进行扫描检测,以确定最佳浸泡时间。检测条件为:参比液:95 %vol 的乙醇,波长范围 200~600 nm,波长间隔 2 nm,重复次数 1,Abs 范围 0.000~3.000。

1.2.3 母糟含量确定试验

称取 2.00 g、4.00 g、6.00 g……18.00 g 母糟置于 250 mL 的烧杯中,分别加入 50 mL 75 %vol 的乙醇,烧杯口用保鲜膜进行密封,每隔 3 min 摇动 1 次,浸泡 30 min。然后经过滤、离心处理,浸提液采用紫外-可见分光光度计在 314 nm 处测其吸光度(浸提液色度较大的用 75 %vol 的乙醇按照 $1/2^n$ 进行稀释,然后按照稀释倍数转化成相应的色度),通过标准曲线计算出浸提液的色度,对色度与母糟量之间做相关性分析,确定合适的称取母糟重量。

1.2.4 母糟浸提溶剂浓度及浸提液离心对提取测定效果的影响

分别准确称取 2 种不同类型的母糟 15.00 g,加入 95 %vol 的乙醇 50 mL,浸提时间 30 min,浸提液离心处理,离心条件:时间 5 min,转速 4000 r/min,以确定离心效果。

1.2.5 母糟置于空气中的时间对测定结果的影响

准确称取 15.00 g 母糟 5 份置于 5 个 250 mL 烧杯中,分别加入 50 mL 浓度为 55 %vol、65 %vol、75 %vol、85 %vol、95 %vol 的乙醇水溶液,浸泡时间 30 min,过滤、离心,在 314 nm 处测定吸光度值,以确定其浸提效果。

取出窖母糟,用保鲜膜封紧,分别取 15.00 g 母糟(母糟接触空气的时间为 0 min、5 min、10 min、15 min、20 min、30 min)置于 250 mL 烧杯中,加入 75 %vol 的乙醇溶液 50 mL,烧杯口用保鲜膜封好,过滤,再经离心处理(离心条件按 1.2.4),在 314 nm 处测定吸光度值,参比液为 75 %vol 的乙醇溶液,以确定母糟放置在空气中的时间对测定效果的影响。

1.2.6 光学纯水的制备

用 0.2 μ m 滤膜在 100 mL 二次蒸馏水或去离子水中浸泡 1 h,用它过滤 250 mL 二次蒸馏水或去离子水,弃去最初 250 mL,制得光学纯水^[4]。

1.2.7 标准溶液的制备

1.2.7.1 色度标准储备液

500 度色度标准储备液:称取 0.3113 g 的六氯铂酸钾(K_2PtCl_6)及 0.2500 g 的六水合氯化钴($CoCl_2 \cdot 6H_2O$)溶于约 125 mL 水中,加入 25 mL 盐酸($\rho=1.18$ g/mL)并在 250 mL 的容量瓶内用水稀释到刻度^[4]。

1.2.7.2 不同色度标准溶液的制备

在一组 250 mL 的容量瓶中,用移液管分别加入 1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL、10.0 mL、20.0 mL 和

30.0 mL 的储备液(1.2.7.1),并用水(1.2.6)稀释到刻度。溶液的色度分别为 2、4、6、8、10、20、40、60 度。

1.2.8 紫外-可见分光光度计选取最大吸收波长

母糟色度测定是相对的,被测母糟的色度是通过将母糟的色素溶解于溶剂中,再通过与作为标准色度系列的已知色度进行比较而得,最后将溶液的色度换算成母糟的平均色度。固定使用 5 cm 的比色皿,采用紫外-可见分光光度计在 200~600 nm 的范围内对用铂-钴标准溶液稀释成的色度为 2、4、6、8、10、20、40、60 度的溶液进行扫描,分析色度与吸光度值的线性关系,最终确定测定色度的最佳条件。

1.2.9 色度标准曲线制作

使用紫外-可见分光光度计,选择波长为 314 nm,光学纯水作为参比液,用固定的 5 cm 比色皿测定不同色度的标准溶液吸光度值,以色度值作为横坐标,相应的吸光度值为纵坐标,建立色度与吸光度值的标准曲线。

1.2.10 母糟浸提液色度测定试验

母糟色度浸提液一般色度较高,文献报道色度较高的污水测定,可按照 $1/2^n$ 的方式进行稀释^[4],稀释后样品的色度与原样品色度的相对误差较小,可用于高色度的污水测定,本实验母糟浸提液的稀释方式采用 75 %vol 的乙醇按照 $1/2^n$ 的方式,然后再按稀释倍数转化成浸提液色度,最后换算成固体母糟的平均色度。

2 结果与分析

2.1 母糟色素浸提液的选取

常温下按照 1.2.1 的方法进行溶解性实验,结果见表 1。由表 1 可知,母糟色素用 95 %vol 的乙醇溶解效果较好,在蒸馏水中溶解性次之,在石油醚中的溶解较差,而在丙酮中不溶解,故选取乙醇作为色素的浸提溶剂。

表 1 母糟色素溶剂溶解性试验

项目	溶剂			
	蒸馏水	95 %vol 的乙醇	丙酮	石油醚
溶解性	溶解	易溶	不溶	难溶

2.2 母糟色素提取的浸提时间

按照 1.2.2 的方法进行扫描检测,结果见图 1。由图 1 可知,扫描的谱线未出现漂移,也就是随着浸泡时间的延长,母糟浸提液中的色度并没有太大的变化,说明糟醅中的色素基本上溶解在溶剂中,稳定性较好,故选取 30 min 作为母糟色素的浸提时间。

2.3 母糟浸提液离心及浸提液浓度的确定

按 1.2.4 的方法进行测定,吸光度值测定条件为:参比液 95 %vol 的乙醇溶液、波长 314 nm。结果见表 2。

由表 2 可知,母糟浸提液经离心处理之后,吸光度值要比未处理稍小,原因是浸提液经滤纸过滤后,浸提液中含有在过滤过程中可以穿透滤纸的一些小颗粒物质,这

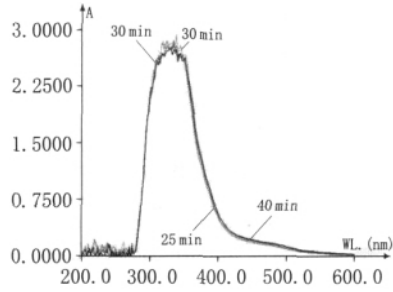


图1 母糟不同浸泡时间全波长范围扫描图谱

表2 母糟色素离心处理试验

项目	母糟A		母糟B	
	是	否	是	否
离心处理				
吸光度值	0.565	0.579	0.485	0.507

些物质悬浮于浸提液中,对吸光度值的测定有一定的影响。因此,浸提液在离心处理之后的吸光度值更能真实反映其吸光度值。

按 1.2.4 的方法测定乙醇浓度对浸提效果的影响,浸提液按照 $1/2^n$ 的方式稀释 16 倍(不同浓度的浸提液采用对应浓度的乙醇溶液进行稀释)。离心方法按 1.2.4,吸光度值测定条件为:参比液为不同浓度的浸提液对应不同浓度的乙醇水溶液、波长 314 nm,结果见表 3。

表3 母糟色素浸提液浓度试验

项目	乙醇(%vol)				
	95	85	75	65	55
吸光度值	0.745	0.827	0.905	0.832	0.804

表 3 的数据结果表明,用 75 %vol 的乙醇作为母糟色素浸提溶剂,测定的吸光度值最大,故确定以 75 %vol 的乙醇作为母糟色素浸提溶剂,提取效果较好。

2.4 母糟采样方式确定

按照 1.2.5 的方法进行处理,测定母糟浸提液吸光度值,测定结果见表 4。

表4 母糟色素与空气接触时间试验

项目	与空气接触时间(min)					
	0	5	10	15	20	30
吸光度值	0.525	0.496	0.445	0.448	0.446	0.450

由表 4 可以看出,随着母糟放置在空气中的时间的延长,吸光度值发生明显变化,在 10 min 之后趋于稳定。原因是母糟(特别是出窖糟)接触空气,发生氧化作用,致使母糟变色,吸光度值发生变化。因此,为了保持母糟的色泽,母糟的取样方式为:扒开表面母糟,取适量母糟,立即用保鲜膜封好置于取样袋中,及时测定。

2.5 最大吸收波长的确定

按照 1.2.8 方法进行扫描,结果见图 2。从图 2 可以看出,不同色度的铂-钴溶液在 280~350 nm 的范围内出现最大吸收峰,随着色度的增加,基线出现了不同程度的飘移。为确定最佳波长条件,在 260~350 nm、间隔波长点为 1 nm 条件下进行扫描,结果见图 3。

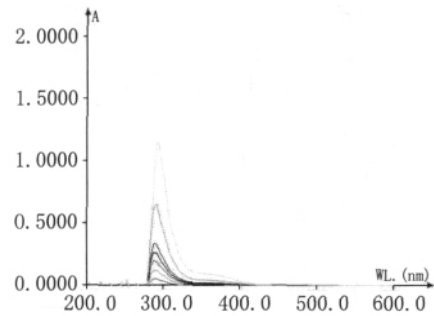


图2 不同色度的铂-钴溶液 200~600 nm 扫描

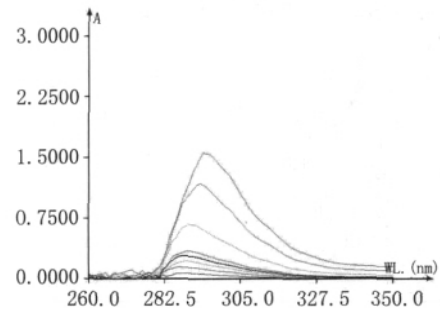


图3 不同色度的铂-钴溶液 260~350 nm 扫描

将不同波长条件不同色度溶液吸光度作比较分析,结果见表 5。从表 5 分析可知,在 310~326 nm 的波长范围内,吸光度值与色度值之间的相关性都比较好。但从相对误差值的角度分析,当波长大于 314 nm,相对误差值慢慢增大,在波长小于 314 nm 的情况下,通过色度反算计算出的相对误差值也在慢慢增大,此外在该波长处吸光度值介于 0~1 之间,精确度较好,因此选择 314 nm 作为最佳测定波长。

2.6 精密度实验

取色度为 40 度的配制色度液样品进行多次重复测定,比较结果的差异性,结果见表 6。

从表 6 可知,测定结果相对误差为 0.13,完全满足分析结果。平均偏差为 0.089,比真值稍大,标准偏差为 0.096,说明精密度较高。

2.7 母糟色度的测定

母糟称取量的确定按照 1.2.3 进行,最后换算成母糟的色度,结果见表 7、表 8 和图 4。

从图 4 可以看出,浸提液的色度随着母糟重量的均匀增加而增加,相关系数为 0.9992,效果较好,说明浸提液的色度随之均匀变化。

表 8 中,首先将母糟浸提液的色度转化为母糟色度。表中数据分为两部分,母糟重量为 2 g、4 g……10 g 时,母糟色度偏差较大,母糟重量为 10 g 以上时,母糟色度偏差则较小。原因是母糟称取量太少时,由于其均匀性等因素的影响而产生误差,但是当称取量达到一定程度后,则可以减小这种误差。

3 结论

采用紫外-可见分光光度计法测定酿酒母糟的色度,

表5 不同波长条件下不同色度溶液吸光度、相对误差及线性关系比较

波长 (nm)	色度(度)										R ²
	2		相对误差 (%)	吸光度						相对误差 (%)	
	吸光度	4		6	8	10	20	40	60		
326.0	0.0083	0.0182	-2.6000	0.0303	0.0366	0.0459	0.0964	0.1898	0.2856	-0.5600	0.999928
325.0	0.0086	0.0191	-2.0000	0.0316	0.0385	0.0481	0.1012	0.1994	0.2998	0.1000	0.999931
324.0	0.0092	0.0201	-1.4400	0.0333	0.0404	0.0506	0.1059	0.2088	0.3138	0.7000	0.999935
323.0	0.0096	0.0211	-1.8200	0.0349	0.0424	0.0531	0.1111	0.2191	0.3295	0.0000	0.999937
322.0	0.0103	0.0224	-1.2900	0.0367	0.0451	0.0561	0.1175	0.2317	0.3484	0.2500	0.999944
321.0	0.0109	0.0237	-1.2300	0.0387	0.0475	0.0593	0.1238	0.2446	0.3674	0.4900	0.999948
320.0	0.0118	0.0255	-1.8900	0.0414	0.0508	0.0636	0.1325	0.2615	0.3928	-0.7000	0.999950
319.0	0.0129	0.0276	-1.7600	0.0446	0.0549	0.0688	0.1426	0.2815	0.4231	-0.6100	0.999955
318.0	0.0140	0.0297	-1.3100	0.0479	0.0595	0.0744	0.1542	0.3043	0.4576	0.4100	0.999961
317.0	0.0152	0.0322	-0.9100	0.0513	0.0642	0.0800	0.1661	0.3284	0.4930	0.2800	0.999966
316.0	0.0164	0.0345	-0.8500	0.0552	0.0687	0.0862	0.1781	0.3524	0.5290	0.2600	0.999967
315.0	0.0177	0.0373	-0.7900	0.0593	0.0748	0.0932	0.1924	0.3813	0.5715	0.3300	0.999973
314.0	0.0189	0.0400	-0.7300	0.0633	0.0800	0.0998	0.2057	0.4079	0.6126	0.1700	0.999977
313.0	0.0201	0.0420	-1.6200	0.0669	0.0846	0.1057	0.2173	0.4310	0.6465	-0.1500	0.999978
312.0	0.0213	0.0446	-1.3100	0.0702	0.0895	0.1109	0.2290	0.4546	0.6806	-0.4300	0.999978
311.0	0.0225	0.0471	-1.3100	0.0741	0.0936	0.1173	0.2407	0.4780	0.7162	-0.4800	0.999979
310.0	0.0239	0.0497	-1.3800	0.0780	0.0996	0.1243	0.2547	0.5056	0.7585	-0.4000	0.999984

表6 精密度测定实验结果

项目	次数							
	1	2	3	4	5	6	7	8
吸光度值	0.407	0.408	0.41	0.408	0.407	0.408	0.408	0.407
色度(度)	39.96	40.06	40.25	40.06	39.96	40.06	40.06	39.96
算术平均值	40.05							
相对误差(%)	0.13							
绝对偏差	-0.09	0.06	0.20	0.06	-0.09	0.06	0.06	-0.09
平均偏差	0.089							
标准偏差	0.096							

表7 不同量的母糟对应糟醅浸提液的色度

母糟重量 (g)	溶液色度 (度)	母糟重量 (g)	溶液色度 (度)
2	80.67	12	580.73
4	172.57	14	694.27
6	271.53	16	789.96
8	371.51	18	878.78
10	467.92		

首先制作色度标准曲线,采用紫外-可见分光光度计确定色度测定最佳波长为314 nm,采用75%vol的乙醇作为色素提取溶剂,色素浸提时间为30 min,浸提液在4000 r/min条件离心5 min。根据不同的要求将浸提液按1/2ⁿ的方式进行稀释,通过测定稀释后液体的色度,按稀释倍数计算出浸提液色度,最后将溶液的色度转化为母

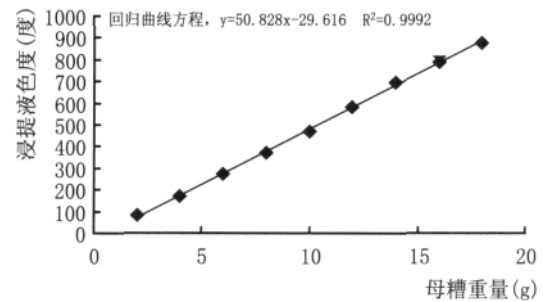


图4 母糟量与母糟浸提液相关性图

糟的平均色度。紫外-可见分光光度计法较常规感官检测法相比,可避免不同人员的评判标准不一造成的误差。该方法有效、可行,对母糟色度进行量化,可代替传统的感官测定方法,具有一定的实用和推广价值。

参考文献:

- [1] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,1998.
- [2] 卢文龙.浓香型白酒生产中感官检验方法的探讨[J].酿酒科技,2007(3):71-72.
- [3] 曾凡君.感官检验在酒行业中的应用和效果[J].酿酒,1993(4):56-57.
- [4] 曾凡亮.分光光度法测定水样的色度[J].工业水处理,2006(9):60-72.
- [5] 陈强,罗亮,等.分光光度法测定水体色度的一种新方法[J].甘肃环境研究与监测,2003(4):342-343.

表8 母糟色度计算及误差分析

项目	母糟重量(g)								
	2	4	6	8	10	12	14	16	18
溶液色度(度)	80.67	172.57	271.53	371.51	467.92	580.73	694.27	789.96	878.78
母糟色度(度/g)	2016.75	2157.13	2262.75	2321.93	2339.6	2419.71	2479.53	2468.62	2441.06
算术平均值	2219.632								
误差(%)	-9.14	-2.82	1.94	4.61	5.41	-1.33	1.11	0.67	-0.46