

气相色谱法测定大曲酯化力方法探讨

何社勋, 郑战军, 张志刚

(汝阳杜康集团总公司技术开发中心, 河南 汝阳 471241)

摘要: 对应用气相色谱测定大曲酯化力的方法进行了研究。采用含1%己酸的20%乙醇溶液, 加入5g绝干大曲粉, 于30~32℃恒温培养100h, 再用气相色谱定量出生成的酯量。(陶然)

关键词: 大曲; 酯化力; 气相色谱; 测定方法

中图分类号: O657.71; TS261.7; TQ925.7

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2004)02-0094-01

Research on the Determination of the Esterifying Capability of Daqu by Gas Chromatography

HE She-xun, ZHENG Zhan-jun and ZHANG Zhi-gang

(Technical Development Center of Dukang Group General Co., Ruyang, He'nan 471241, China)

Abstract: The determination of the esterifying capability of Daqu by gas chromatography was studied. The procedures were as follows: solution containing 1% caproic acid and 20% alcohol, then 5g absolutely dry Daqu powder added in the solution, then 100h culture under constant temperature of 30~32℃, the quantity of produced esters determined by gas chromatography at last. (Tran. by YUE Yang)

Key words: Daqu, esterifying capability; gas chromatography; determination method

大曲在白酒酿造过程中作用非常重要, 除起到糖化、发酵作用外, 同时又起到酯化生香作用。糖化力、发酵力、酯化力是衡量大曲质量优劣的关键性指标, 它将直接影响到白酒的产量、质量和风格。随着酿造技术的不断发展, 认识到酯化酶对白酒酒体呈香、呈味物质形成及白酒的香型和风格有着巨大的影响, 大曲酯化生香作用越来越受到人们的重视^[1]。如何提高大曲酯化力, 是白酒厂家能否实现增产降耗, 提质增效的关键。因此, 开展大曲酯化酶的深入研究及大曲酯化力测定具有现实意义。

1 原理

大曲中含有酯化酶, 是对酸、醇具有酯化能力的菌, 它是脂肪酶和酯酶的统称。白酒酒体呈香、呈味是以酯香为主的复合体, 酿造过程中酯化酶起催化作用^[2], 使酸、醇结合脱水生成酯, 反应式如下:



测定大曲酯化力就是定量酸、醇结合脱水生成酯的量。操作时可采用适当浓度乙醇与单一酸或混合酸水溶液, 加入一定量被测大曲, 在一定时间、温度下培养, 用气相色谱定量出生成酯的量。在同样条件下做空白试验对照。

2 大曲酯化力测定

2.1 大曲酯化力

酯化力^[3](以己酸乙酯计), 1g绝干曲在30~32℃反应100h所产生的己酸乙酯毫克数, 以mg/g·100h表示。

2.2 试剂和溶液

2.2.1 20%(v/v)乙醇溶液

2.2.2 含1%己酸的20%(v/v)乙醇溶液

准确吸取1ml己酸(AR级)于一洁净100ml容量瓶中, 用20%(v/v)乙醇溶液定容至刻度, 摇匀, 备用。

2.2.3 己酸乙酯, 色谱纯, 作标样用。用60%(v/v)乙醇溶液配制成1g/L己酸乙酯标准溶液。

2.2.4 乙酸正戊酯, 色谱纯, 作标样用。用60%(v/v)乙醇溶液配制成1g/L乙酸正戊酯标准溶液。

2.3 色谱条件

2.3.1 SP-3420气相色谱仪, FID, BF2002色谱工作站。

2.3.2 PEG20 M交联石英毛细管柱, 内径0.25mm, 柱长30m。

2.3.3 氮气流速1ml/min, 分流30:1, 尾吹30ml/min。

2.3.4 氢气流速30ml/min, 空气流速300ml/min。

2.3.5 检测器温度220℃, 进样器温度200℃。

2.3.6 柱温

起始温度60℃, 保温2min, 然后以3.5℃/min升温至100℃, 再以6℃/min程序升温至180℃, 保温10min。

2.4 测定方法

2.4.1 酯化液制备

取100ml含1%己酸的20%(v/v)乙醇溶液, 放入一洁净250ml蒸馏烧瓶中, 加入5g绝干曲粉, 在30~32℃恒温培养酯化100h。最后加水50ml, 加热蒸馏, 收集馏出液100ml, 用于酯化力测定。

2.4.2 操作步骤

2.4.2.1 己酸乙酯校正因子*f*值测定

吸取1g/L的己酸乙酯标准溶液0.2ml于10ml容量瓶中, 准确加入1g/L乙酸正戊酯内标溶液0.2ml, 然后用60%(v/v)乙醇定容至刻度, 混匀后进样1μl。记录各组分的保留时间并根据添加的内

(下转第96页)

收稿日期: 2003-06-09; 修回日期: 2003-09-02

作者简介: 何社勋(1965-), 男, 河南洛阳人, 大学本科, 工程师, 现主要从事白酒工艺和质量检测工作, 发表论文数篇。

杨醛、丁香酚、藁本内酯和对甲氧基桂皮酸乙酯与其他组分分离良好。其保留时间分别为11.73 min, 12.79 min, 12.91 min, 16.59 min, 16.95 min。

2.2 标准曲线的制备

分别准确吸取1.3制备的标准贮备液0, 1.0 ml, 2.0 ml, 4.0 ml, 6.0 ml, 10.0 ml于6个10 ml容量瓶, 用甲醇定容, 制成标准系列进行测定; 然后以标准物浓度(X)为横坐标, 对应峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归分析, 得线性回归方程、相关系数r、线性范围, 分别为:

桂皮醛: $Y=1520X+2140$, $r=0.9992$, 0~15.0 mg/L

4-甲氧基水杨醛: $Y=2300X-2920$, $r=0.9993$, 0~80.0 mg/L

丁香酚: $Y=1410X+965$, $r=0.9990$, 0~250.0 mg/L

藁本内酯: $Y=276X-2760$, $r=0.9996$, 0~250.0 mg/L

对甲氧基桂皮酸乙酯: $Y=2750X-9440$, $r=0.9999$, 0~250.0 mg/L

L

2.3 精确度和回收率实验

精确吸取五加皮酒样12份(6份×2), 其中的6份每份分别加标准贮备液3.0 ml, 然后按样品处理方法进行测定, 计算各组分的相对标准偏差和加标回收率, 结果见表1。

2.4 样品测定

表2比较了10个不同的五加皮保健酒样品中桂皮醛、4-甲氧基水杨醛、丁香酚、藁本内酯和对甲氧基桂皮酸乙酯的含量检测结果。

3 结论

表1 4种组分的相对标准偏差和回收率(n=6)

组分	本底值 (μg)	标准偏差 SD(μg)	RSD (%)	加标量 (μg)	加标后平均测 出量(μg)	平均回收 率(%)
桂皮醛	24.5	0.85	3.47	45.0	65.7	91.56
4-甲氧基水杨醛	150.2	1.62	1.08	240.0	384.3	97.54
丁香酚	590.5	9.56	1.62	750.0	1306.8	95.51
藁本内酯	940.3	17.58	1.87	750.0	1659.0	95.83
对甲氧基桂皮酸乙酯	660.1	16.90	2.56	750.0	1371.0	94.79

(上接第94页)

标量, 计算出己酸乙酯校正因子f值。

2.4.2.2 测定

取少量制备好的酯化液于10 ml容量瓶中, 准确加入1 g/L乙酸正戊酯内标溶液0.2 ml, 然后用酯化液定容至10 ml, 摇匀, 进样1 μl。

2.4.2.3 计算

$$\text{酯化力}(\text{mg/g} \cdot 100 \text{ h}) = f \times \frac{A_1}{A_2 \times m} \times \frac{100}{10} \times 0.020 \times 1000 - K$$

式中: f——己酸乙酯校正因子;

A_1 ——己酸乙酯峰面积;

A_2 ——乙酸正戊酯内标峰面积;

m——相当于5 g干曲的曲粉量, g;

0.020——样品中添加乙酸正戊酯内标质量, g/L;

100/10——换算为100 ml馏出液酯化力;

K——空白试验的酯化力(mg/g·100 h)。

2.5 讨论

2.5.1 混和酸(如乙酸、丁酸、己酸等)的20%(v/v)乙醇溶液酯化法同上。

2.5.2 酯是浓香型曲酒中最重要的成分, 是微量成分中含量最高、

表2 五加皮保健酒样品检测结果 (mg/L)

样品 编号	桂皮醛	4-甲氧基 水杨醛	丁香酚	藁本 内酯	对甲氧基桂 皮酸乙酯
1	0.49	2.4	5.6	21.8	6.1
2	1.17	3.2	5.4	19.4	6.2
3	0.50	2.7	6.0	14.5	9.7
4	0.49	3.0	11.8	18.8	13.2
5	0.86	3.8	7.9	16.0	9.4
6	0.43	3.4	7.2	13.2	8.5
7	1.21	5.4	8.5	18.2	16.0
8	0.75	4.0	9.6	14.7	14.7
9	0.32	3.1	6.9	14.6	8.8
10	0.82	2.7	4.6	8.9	10.1

3.1 本文建立的方法同时测定五加皮保健酒中的桂皮醛、4-甲氧基水杨醛、丁香酚、藁本内酯、对甲氧基桂皮酸乙酯的含量, 有较好的精确度和回收率。

3.2 五加皮保健酒中挥发性特征成分的含量在不同产品之间存在较大差距。而4-甲氧基水杨醛是五加皮的特征成分, 含量的高低很能说明问题。

3.3 五加皮保健酒特征成分的检测能促进这一传统中药药酒的质量标准的制订以及质量控制现代化。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2000年(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [2] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.
- [3] 刘媛. 气相色谱定量分析中药有效成分[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2001, 37(2): 217-220.
- [4] 周长新, 等. 气相色谱质谱法测定当归挥发油中藁本内酯的含量[J]. 药物分析杂志, 2002, 22(4): 290-292.
- [5] 郑云燕, 等. 五加皮保健酒的急性毒性和致突试验[J]. 卫生毒理学杂志, 2001, 15(1): 13.

数量较多、影响最大的成分, 也是形成酒体香味浓郁的主要物质, 因此酯化力的强弱将直接影响浓香型曲酒总酯含量的高低。但是所形成的各种酯之间及与其他微量成分之间的量比关系对酒质的影响是一项重要的研究课题, 有待于和同行进一步探讨。

2.5.3 酯化酶对醇、酸酯化作用必须在适宜的温度下进行。一般在25~30℃温度下酯化能力较高, 温度升至34℃以上时, 酯化力急剧下降, 甚至失去酯化能力。

2.5.4 酯化酶的酯化作用是一个可逆过程, 既可作用于酸、醇生成酯, 也可将生成的酯分解。因此测定大曲酯化力同时, 还要测定其酯分解力。

2.5.5 大曲酯化力测定, 对生产具有科学指导意义。鉴于酯化酶双重特性, 对所产酯化酶的菌种进行分离选育, 优选出所产酯分解力较弱而酯化力较强的功能菌, 在大曲生产中强制接种。这样才能达到增产降耗, 提质增效的目的。

参考文献:

- [1] 姚万春, 等. 曲药酯化酶活力测定方法的初步研究[J]. 酿酒科技, 1996, (5): 61.
- [2] 郭显章. 酶的工业生产技术[M]. 吉林: 吉林科学技术出版社, 1998.
- [3] 沈怡方. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.