



仪器及条件:岛津GC-14 FID检测器,CDMC色谱工作站。色谱柱为毛细管柱FFAP(BP-21)长50 m,内径32 mm。检测器温度220℃,汽化温度180℃。程序升温:起始温度50℃,恒温2 min后以3.5℃/min速率升至200℃,继续恒温10 min。分流比40:1。

样品处理:取样品50 ml加活性炭吸附,静置,过滤,取清滤液20 ml加盐酸酸化至pH2,用无水乙醇稀释至40 ml,摇匀;于10 ml具塞试管中准确移入10 ml处理后的样品,加入0.1%三内标混合液,摇匀,进样量为1 μl。

例如某F<sub>2</sub>发酵液稀释1倍进样分析色谱图见图1,主要有机酸分析结果见表1。

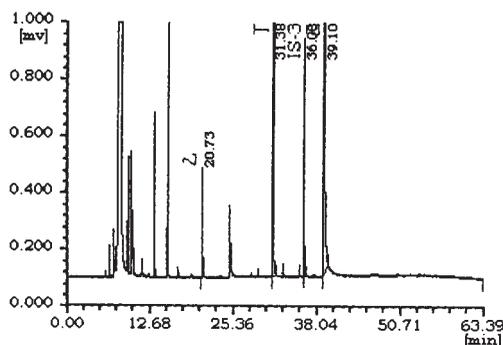


图1 F<sub>2</sub>发酵液稀释1倍色谱图

表1 F<sub>2</sub>发酵液稀释1倍分析结果

组分名称	保留时间 (min)	峰高 (微伏)	峰面积(微伏·秒)	校正因子	含量 (mg/100 ml)
乙酸	20.73	388	1911.5	2.30	19.2
丁酸	31.38	2529	14717.3	1.47	94.8
内标3	36.00	839	4240.0	1.00	18.57
己酸	39.10	11504	74242.5	1.34	435.7

还有其他处理己酸发酵液样品方法来进行气相色谱分析,如,借用测定白酒中有机酸方法如苯酯化衍生法、有机重氮甲烷法<sup>[4]</sup>等。但制备重氮甲烷试剂及重氮甲烷本身有剧毒、易爆,而苯基溴也是催泪毒气,要求在通风橱中进行操作。

2 分析讨论

2.1 己酸菌培养要求定期抽样镜检菌体健壮程度、活动情况、菌体数量等,还要经常纯化菌种,优化培养基,严格控制好发酵参数,提高其产己酸能力。

2.2 以上几种方法测定同一己酸发酵液,结果对比见表2。

硫酸铜快速测定法定性发酵中己酸快速、简便,仅能从颜色深

表2 4种测定法结果对比 (mg/100 ml)

酸类	硫酸铜法	比色法	层析法	色谱法
己酸	+++	930	840	871
丁酸	—	—	155	190
乙酸	—	—	—	38

浅粗略判断发酵液中己酸的高低。如果发酵液没有乙酸盐或pH值过低,则乙醚层不显色,这一点应引起注意。

比色法测定己酸简单易操作,同样pH值及其他有机酸对己酸显色有干扰,因此要予以重视,否则容易产生较大误差。

纸上层析法在发酵工业应用广泛,如我公司和中国药科大学开发新产品植物激素-脱落酸(Abscisic acid)也可以用纸上层析或薄层层析定性分析甚至可以定量分析,它有设备简单、样品量少和灵敏度高优点,但展开时间较长是其缺点,所配部分试剂也不能放置时间过长。

直接进样毛细管柱气相色谱法,该方法快速、准确且多种组分可分析出。但关键要处理好样品,发酵液滴加盐酸酸化一般pH2~3,可添加适量活性炭吸附蛋白质等有机大分子,滤液要求无固形物,过滤可采用多次过滤,亦可考虑高速离心机处理样品,总之,稀释后的样品须达到色谱进样要求。若通过蒸馏己酸发酵液来测定己酸,可能误差较大。我们取某发酵液(直接进样色谱法测定己酸562 mg/100 ml,丁酸38 mg/100 ml)100 ml蒸馏,蒸出90 ml,加无水乙醇稀释至100 ml,气相色谱法检测;而将残留液加蒸馏水、无水乙醇洗脱,溶解,酸化,稀释至100 ml,活性炭吸附,过滤,取滤液色谱检测。分析结果见表3。

表3 蒸馏液及残液分析结果 (mg/100 ml)

酸类	蒸馏液	残液	合计
己酸	166	351	517
丁酸	—	39	39

可见残液中己酸含量占很大部分,可能因为己酸等有机酸一般沸点都比较高,不容易蒸馏出,且发酵液中有有机酸很大一部分以盐的形式存在,无法蒸出,因此酸化处理发酵液是必要的。

参考文献:

[1] 梁家砜,等.产己酸细菌研究[J]酿酒科技,1994,(4):67.  
 [2] 吴根福,陈佩华.比色法定量测定己酸含量的初步研究[J]酿酒科技,1995,(6):35-36.  
 [3] 天津轻工业学院,等.工业发酵分析[M]北京:中国轻工业出版社,1997.  
 [4] 沈怡方.白酒生产技术全书[M]北京:中国轻工业出版社,1998.

(上接第86页)

表1 鹿血酒氨基酸含量

氨基酸名称	含量	氨基酸名称	含量
ASP 天门冬氨酸	2.42	THR 苏氨酸	1.14
SER 丝氨酸	1.08	GLU 谷氨酸	3.58
GLY 甘氨酸	1.04	ALA 丙氨酸	1.57
VAL 缬氨酸	3.53	MET 蛋氨酸	0.46
ILE 异亮氨酸	0.56	LEU 亮氨酸	1.95
TYR 酪氨酸	0.64	PHE 苯丙氨酸	1.59
LYS 赖氨酸	1.37	HIS 组氨酸	0.87
ARG 精氨酸	1.21	PRO 脯氨酸	0.99
CYS 胱氨酸	0.32	TRP 色氨酸	0.29
氨基酸总量	24.59		

低越好,但是鹿血的有效成分不能经过高温灭菌,因此产品还要在一定的酒精浓度范围内。

我们经过多次试验后,最后将鹿血酒定为28度,这样不仅满足了有效成分的含量,同时在鹿血酒的卫生要求上达到标准。

3.6 由于酶活性的灭失有很多种方法,为了不使鹿血中有效成分的损失过多,故采用一定浓度的酒精和低温灭酶法,效果良好。

参考文献:

[1] 无锡轻工大学.微生物学[M]北京:中国轻工业出版社,1997.  
 [2] 曹庆文,李昌康.强化工艺管理,确保粮食安全度夏[J]酿酒科技,1998,(4):39.  
 [3] 沈同等.生物化学(第二版)[M]北京:高等教育出版社,1991.  
 [4] 贾士儒.生物反应工程原理[M]天津:南开大学出版社,1990.

3.4 3种酶的添加量只能低于上述要求,如果过高会给产品的口感带来邪杂味。

3.5 鹿血的有效成分大多属水溶性物质,因此最终产品的酒度越