

流动化学分析仪快速测定啤酒 生产过程游离氨基氮含量

李 丽,宗绪岩,罗惠波,卫春会,江文涛

(四川理工学院生物工程学院,四川 自贡 643000)

摘 要: 为了更快捷、更精确的测定啤酒发酵过程中样品游离氨基酸含量,选用甘氨酸作为标准品,使用流动化学分析仪对已知样品进行了测定。结果表明,在 30~150 mg/L 浓度范围内,具有良好的线性关系($R=0.9997$)和重现性(RSD 范围为 0.82%~1.46%),空白加标回收率较准确(98.80%~102.67%),并具有较高的检出限(1.244 mg/L)。该方法可作为一种快速、准确的检测方法应用于生产。

关键词: 啤酒; 流动分析仪; 游离氨基氮; 茚三酮

中图分类号:O657;TS262.5;TS261.4;TS261.7

文献标识码:A

文章编号:1001-9286(2013)06-0104-03

Rapid Test of Free Amino Nitrogen Content in Beer-brewing by Flow Chemical Analyzer

LI Li, ZONG Xuyan, LUO Huibo, WEI Chunhui and JIANG Wentao

(College of Bioengineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong, Sichuan 643000, China)

Abstract: To determine free amino nitrogen content in beer-brewing quickly and accurately, flow chemical analyzer was used for the detection of beer samples with glycine as the standard. The data showed that there were good linear relations ($R=0.9997$) and repeatability (RSD range 0.82%~1.46%) as free amino nitrogen content ranged from 30 mg/L to 150 mg/L. The recovery rate of control beer samples was accurate (98.80%~102.67%). And the detection limit was low (1.244 mg/L). Such method could be used in beer production because of its rapid and accurate measuring results.

Key words: beer; flow chemical analyzer; free amino nitrogen; ninhydrin

游离氨基氮广泛存在于生物体内,作为一种有机氮源且较大分子的蛋白类物质,其更利于生物体吸收转化,因此游离氨基酸是生物化学分析中经常检测的一个重要指标。常用的游离氨基酸检测方法有甲醛滴定法^[1]、电位滴定法^[2]、茚三酮比色法^[3]、2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)法^[4]等多种方法。但这些测定方法或是操作复杂、繁琐,或是试剂消耗量大,或是样品颜色影响测定等缺点,同时都存在测定速度慢的问题,造成大批量样品的检测结果无法及时地指导生产。

茚三酮作为氧化剂,能使 α -氨基酸脱羧氧化,生成二氧化碳、氨和比原来氨基酸少一个碳原子的醛;还原茚三酮再与氨和未还原的茚三酮反应,生成蓝紫色缩合物;

产生的颜色深浅与游离 α -氨基氮含量成正比,在波长 570 nm 下有最大吸收值,可用来比色测定^[5]。基于以上原理,本研究设计一套行之有效的实验步骤,利用流动化学分析仪对啤酒生产过程的游离氨基酸进行测定,为相关实验研究提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

材料:麦汁、啤酒或啤酒发酵液。

试剂:甘氨酸、茚三酮、醋酸、醋酸钠、Brij,以上试剂均为分析纯。

仪器设备:API 公司生产的 AAS 系列流动化学分析

基金项目:四川省教育厅科研项目(编号:11ZB248);四川省教育厅科研重点项目(编号:12ZA100)。

收稿日期:2012-12-27

作者简介:李丽(1982-),女,四川理工学院讲师,博士。

通讯作者:宗绪岩。

优先数字出版时间:2013-03-06;地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20130306.1447.008.html>。

仪,包括:311 型自动取样器、302D 型泵系统、303A 型反应系统、305D 检测器、FAS-Pac-II 系列检测软件。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的处理

精确吸取麦汁、啤酒或啤酒发酵液样品(无需除气或过滤)1 mL 用水定容至 100 mL,混匀后用滤纸过滤,滤液澄清即可进行分析。

1.2.2 标准溶液的配制

准确称取 5.362 g 甘氨酸,水溶解定容至 1000 mL,即为 1000 mg/L 的浓缩标准液。测定时分别用水稀释至 30 mg/L、60 mg/L、90 mg/L、120 mg/L 和 150 mg/L。

1.2.3 显色剂的配制

将 5 g 茚三酮溶于 400 mL 的 pH6.7 醋酸-醋酸钠缓冲溶液中,溶解后定容至 500 mL,棕色瓶暗处保藏。

1.2.4 样品的分析

1.2.4.1 仪器参数设定

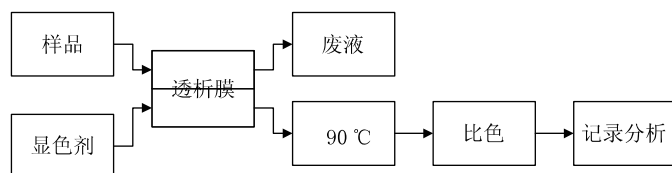
进样时间:60 s;冲洗时间:90 s;取样器清洗液:Brij-水;系统稳定时间:15 min;测定波长:570 nm;反应器温度:90 ℃;每隔 10 个样品做 2 次自动清洗和 1 次基线校正。

1.2.4.2 样品的摆放顺序

用甘氨酸溶液(150 mg/L)的标准溶液做同步标记,后面为延迟估计和基线校正,然后按照浓度由低到高依次摆放标准液,接着进行漂移校正和基线校正,最后放置样品,并设定分别对样品 1#(游离氨基氮含量为 72.58 mg/L)、2#(游离氨基氮含量为 120.72 mg/L)及 30 mg/L、90 mg/L 的葡萄糖标准样品分别进行 10 次测定。

1.2.4.3 测定流程

流程如下:



2 结果与分析

2.1 标准曲线的测定

对标准溶液进行自动分析后得到标准曲线见图 1。其回归方程为: $y=0.0001277x-0.006040$, $R=0.9997$ 。由此可见,在测定浓度范围内,标准曲线的线性良好,适合于定量分析。

2.2 精密度

对 30 mg/L 和 90 mg/L 的标准样品及待测样品 1#和 2# 分别进行 10 次测定。结果表明(表 1),精密度在

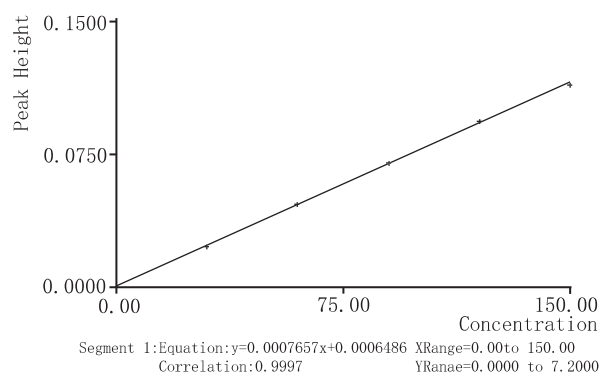


图 1 游离氨基酸测定标准曲线

0.82 %~1.46 %之间,使用本发明方法测定游离氨基氮含量具有较好的精密度。

表 1 游离氨基酸精密度测定结果

编号	结果 (mg/L)					均值 (mg/L)	精密度 (%)
C1	30.65	29.98	29.87	29.99	29.64	30.28	1.46
	30.74	31.02	30.12	30.56	30.27		
C3	90.66	91.03	90.62	89.17	89.26	90.24	1.02
	89.14	89.25	90.64	91.31	91.27		
1#	73.46	72.04	73.58	72.15	72.63	72.94	1.14
	74.52	71.89	72.99	72.64	73.47		
2#	121.65	119.67	120.54	119.74	121.08	120.68	0.82
	122.47	120.03	121.49	120.66	119.46		

2.3 空白加标回收率

已知浓度的标准品和样品的空白加标回收率测定结果见表 2。由表 2 可知,游离氨基酸回收率在 98.80 %~102.67 %之间,平均加标回收率在 99.97 %~100.95 %之间,说明该方法可行。

表 2 游离氨基酸回收率测定结果

编号	结果 (mg/L)					回收率范围 (%)	平均回收率 (%)
C1	30.65	29.98	29.87	29.99	29.64	98.80~103.40	100.95
	30.74	31.02	30.12	30.56	30.27		
C3	90.66	91.03	90.62	89.17	89.26	99.04~101.46	100.26
	89.14	89.25	90.64	91.31	91.27		
1#	73.46	72.04	73.58	72.15	72.63	99.05~102.67	100.49
	74.52	71.89	72.99	72.64	73.47		
2#	121.65	119.67	120.54	119.74	121.08	98.96~101.45	99.97
	122.47	120.03	121.49	120.66	119.46		

2.4 检出限

根据美国环境保护所(EPA)相关标准^[6-7],在置信水平为 99 %时,重复测定浓度与方法检出限接近的样品 n 次,计算出标准偏差 STD。检出限(MDL)计算公式: $MDL=2.821 \times STD$ 。

实验使用浓度为 30 mg/L 的甘氨酸标准溶液作为标准样,重复测定 10 次,10 次测定结果的标准偏差

STD=0.441,方法检出限 MDL=1.703×2.821=1.244 mg/L。

2.5 注意事项

①如果某个样品浓度较高,已影响到其后的样品分析时,应将被影响的样品插于其他位置重复检测,或延长进样和清洗时间并重新试验,以确保结果准确。

②该测定过程为变色反应,当浓度过高时,测定结果超出标准曲线范围,标准曲线方程即失效。因此,当样品中游离氨基氮含量过高时需加大稀释倍数。

③如发现有渗漏,要检查管路连接是否正确,若管线老化需及时更换。

④分析过程中,应注意气泡大小及均匀情况。如发现管路中有不均匀气泡,立即检查其产生的原因。

3 结论

传统测定方法采用人工测定,分析一个样品一般需要约 0.5 h,测定批量样品时间歇操作,每个样品需约 5 min,人为误差较大。本方法进行批量连续测定时,样品测定时间小于 15 min,样品间隔约 1.5 min,测定、分析过程均为自动操作,系统误差较小。

应用微量自动化学分析仪测定麦汁、啤酒或啤酒发酵液中游离氨基酸含量的前处理步骤简单,不需除气或过滤,测定结果准确可靠,方法重复性好,检测快速,回收率高,适合于游离氨基酸的批量快速准确分析。

参考文献:

- [1] 王剑锋,孙爽,李瑶,等. 甲醛滴定法测定牛血清白蛋白的酶解度[J].大连民族学院学报,2012,14(5):441-444.
- [2] 陈志慧.酿造酱油中氨基酸含量测定的新方法[J].中国调味品,2004(9):44-46.
- [3] 张永国,秦锐兰.麦汁中 α -氨基氮含量的测定方法[J].啤酒科技,2008(3):35-37.
- [4] 冯岩,冯志彪,王楠.乳清蛋白水解物游离氨基浓度测定方法比较[J].食品科学,2010,38(5):46-48.
- [5] 宗绪岩.啤酒分析检测技术[M].成都:西南交通大学出版社,2012.
- [6] 宗绪岩,罗惠波,黄治国,等.自动化学分析仪快速检测大曲糖化力方法研究[J].中国酿造,2011(2):162-164.
- [7] 宗绪岩,李丽,刘清斌,等.连续流动化学分析仪在发酵液在线监测上的应用[J].食品与机械,2011,27(6):127-130.

酱香型贵州青酒即将挂牌“金马甲”

本刊讯:2013年5月22日,北京金马甲产权网络交易有限公司(以下简称“金马甲”)宣布,由贵州青酒集团出品的“2013 酱香贵州洞藏青酒私藏酒”即将挂牌金马甲高端商品交易平台,这将是金马甲发售的首支酱香型白酒产品。

在白酒行业特别是高端白酒产品面临严峻考验的大背景下,金马甲逆市力推酱香型白酒品牌,在业内引起不小的震动。“众所周知,从2012年到现在,由于限制三公消费、禁酒令等政策性因素影响,经历了十多年高速增长的中国白酒行业面临发展拐点。在产业发展面临一定的不确定性的情况下,金马甲选择发售以贵州青酒为代表的酱香型白酒产品,正是基于对白酒行业的深入观察和理解”。金马甲产权网络交易有限公司总裁樊东平对记者表示,酱香型白酒天然的稀缺性、久藏性特别是随着时间增长价值不断提升的特点完全契合于金马甲高端商品交易选择产品的“四大准则”,即“天然稀缺、单体价值高、随着时间增长价值不断提升、市场有保真消费的需求”。

在此次发布贵州青酒即将挂牌的新闻通气会上,业内知名白酒专家介绍,酱香型白酒首先是生产原料要求高,须采用贵州特产的“小红粱”,不仅产量稀缺价格也是一般高粱的三到五倍,其次是生产工艺季节性强,须严格按照“端午采曲、重阳投料”的时令进行,之后的“三高三长、九蒸七取、五年方成”传统酱酒酿造工艺更决定了酱香型白酒需要一年的生产周期、至少三年的陈酿老熟时间,再加以对“七次取酒”的勾调,才成就真正的大曲酱香”。此外,酱香型白酒系统发酵蒸馏食品,不允许也不能添加任何香气香味物质,53度酱香型白酒甚至不允许添加水,完全由酱香、窖底香、醇甜香3种本体酒香组成,因此才能存放时间越长酒质越好,从而价值也不断提升。

基于此,定位于“高端商品交易”的金马甲选择与贵州著名酒企——贵州青酒集团合作,推出了首款酱香型白酒发售产品。贵州省酿酒工业协会副会长、贵州青酒集团副董事长任庭光介绍,贵州青酒集团前身为始建于1955年的贵州青溪酒厂,现在已经发展成为贵州本土仅次于茅台集团的第二大白酒生产企业,下属的22个子公司还涉及白酒外的旅游、房地产、生物技术、畜牧业、煤炭、运输等多个行业,是黔东南规模最大的民营企业之一。任庭光表示,此次即将发售的2013 酱香贵州洞藏青酒私藏酒,不仅严格遵循“大曲酱香”的制作工艺,更采用了贵州省非物质文化遗产酿造工艺、珍藏于中国目前最大的白酒洞窖酒库——经亿万年形成的喀斯特溶洞窖藏多年精酿而成。“贵州是世界著名的‘喀斯特王国’,复杂多样的自然生态环境、温暖湿润的气候条件和多种类型的土壤条件,使贵州成为中国著名的美酒之乡,也催生了一种独特的美酒酿造工艺——贵州洞藏青酒原生态溶洞窖藏,这种原始的窖藏方法是将基酒采用土陶酒坛盛装,经溶洞长期贮存,让基酒自然老熟。由于喀斯特溶洞常年保持14~22℃的恒温,有助于白酒酿造业所需的多种微生物的繁衍生息和生物反应,对酒的醇化十分有利。有‘洞中贮一日,开瓮香千里’之美誉”。任庭光对记者表示,从1997年以来青酒集团已经保持了连续16年的快速增长,近几年围绕贵州洞藏青酒力争打造“中国洞藏酱香白酒的领航品牌”,“因此,我们选择与金马甲这样一个高公信力和定位高端的国有交易平台合作,希望贵州洞藏青酒成为全国的消费者和投资人了解酱香型白酒、了解洞藏工艺甚至了解美丽镇远的一个窗口”。

金马甲产权网络交易有限公司副总裁陈慧明也认为,在白酒行业面临大调整的背景下,金马甲这样的高端商品交易平台能够为白酒市场特别是高端白酒品牌的“突围”提供新的解决方案:“中国高端白酒市场曾经以三公消费、巨额营销投入和文化概念增值作为其价格支撑,现在一定要面临价值回归的命题。我们认为酱香型白酒因为天然的稀缺性、复杂的制作工艺和不可复制的时间周期这三大特点使其成为价值回归趋势下高端白酒最扎实的题材”。陈慧明指出,在白酒产能过剩的现在,酱香型白酒的市场份额实际上还不足10%,“酱香型白酒从过去的‘官酒’向民间消费拓展的空间极为广阔,金马甲高端商品交易所致力的,正是以投资带消费,帮助白酒企业完成目标客户群体的转化,摆脱对传统团购渠道的依赖;另一方面,在茅台和郎酒之后,酱香型白酒的品牌梯队还未真正形成,对青酒代表的贵州新八大名酒这样的中国驰名商标而言,现在是最好的机会”。陈慧明透露,金马甲和中国酒业协会已经就中国高端白酒的平台合作达成了战略合作意向,“我们将在行业标准、高端白酒品牌树立和推广等多个领域展开积极合作”。(小雨)