

# 妙府老酒中总氮及氨基酸含量的测定

张颖<sup>1</sup>,王家林<sup>1</sup>,于秦峰<sup>2</sup>

(1.青岛科技大学生物工程与技术系,山东 青岛 266042;2.妙府老酒有限公司,山东 青岛 266042)

**摘要:** 分别采用凯式定氮法、隆丁区分法与全自动氨基酸分析仪分析测定了妙府老酒中的总氮、蛋白质分子量分布及氨基酸含量。结果表明,妙府老酒氨基酸总含量为 3287.52 mg/L,是富含氨基酸型保健饮品。该方法操作简便、检测快速、结果准确。

**关键词:** 黄酒; 妙府老酒; 总氮; 隆丁区分; 氨基酸

中图分类号: TS262.4; TS261.7

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2011)10-0098-03

## Measurement of Total Nitrogen Content and Amino Acid Content in Miaofu Rice Wine

ZHANG Ying<sup>1</sup>, WANG Jialin<sup>1</sup> and YU Qingfeng<sup>2</sup>

(1. Department of Biochemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, Shandong 266042;

2. Miaofu Rice Wine Co. Ltd. Qingdao, Shandong 266042, China)

**Abstract:** Kieldahl method, Loding method and automatic amino acid analyzer were adopted to measure total nitrogen content, to analyse protein molecule mass distribution, and to measure amino acid content in Miaofu rice wine. The results showed that the content of total amino acid were 3287.52 g/L and Miaofu rice wine was a healthcare wine product with rich amino acids. Such method was simple to operate with rapid measurement and high accuracy.

**Key words:** yellow nice wine; Miaofu rice wine; total nitrogen; Loding method; amino acid

黄酒中蛋白质的含量是黄酒品质的重要指标之一。目前,一般采用凯氏定氮法测总氮,然后换算成蛋白质含量,或用隆丁区分法测定高、中、低蛋白质分子的含量<sup>[1]</sup>。黄酒中含有 20 多种氨基酸,包括人体所需的 8 种必需氨基酸。黄酒中氨基酸的总量在 0.3%~0.5%之间,占黄酒总氮的 2/3,其含量居各种酿造酒之首,比啤酒、葡萄酒和日本清酒高出 2~36 倍。这些氨基酸主要由曲霉的酸性蛋白酶和酸性羧肽酶作用于蒸煮后的原料米中的蛋白质而产生,另外,原料、糖化剂、发酵剂的水解以及酵母和霉菌的自溶也能产生。氨基酸是合成蛋白质的原料,是人体重要的营养物质。此外,氨基酸也是黄酒中重要的呈味物质,它具有鲜、甜、苦、涩等多种味感,赋予黄酒丰富的味觉层次,使其具有鲜美、醇和、浓郁、柔润、协调和多滋多味的特征。目前,用于食品中氨基酸分析的方法主要有衍生化离子交换色谱法、衍生化高效液相色谱法、柱前衍生化气相色谱法、衍生化毛细管电泳法、阴离子交换色谱积分脉冲安培法<sup>[2]</sup>。诸葛庆<sup>[3]</sup>等采用阴离子交换色谱法-积分脉冲安培检测法测定了江西、绍兴、福建三地黄酒中的

氨基酸;任一平<sup>[4]</sup>等应用 HPLC 柱后衍生法测定了黄酒中的游离氨基酸,在 65 min 内将黄酒中 15 种氨基酸完全分离定量;宋志峰<sup>[5]</sup>等采用 HPLC-二极管阵列-荧光检测联用技术对市售 5 种不同品牌的黄酒游离氨基酸含量进行测定。作为即墨老酒的优秀代表,妙府老酒已被列为青岛市物质文化遗产。

本文分别采用凯式定氮法、隆丁区分法与全自动氨基酸分析仪分析测定了妙府老酒中的总氮、蛋白质分子量分布及黄酒中 17 种氨基酸含量。该法操作简便、快速、干扰小、衍生物稳定,仅在 30 min 内即实现了将黄酒中 17 种氨基酸完全分离定量。此法在行业中应用广泛,为快速分析酒类中多种氨基酸提供了良好的途径。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器与试剂

**仪器:** Foss Kjeltec2100 凯式定氮仪,日立 L-8800 型全自动氨基酸分析仪。

**试剂:** 比重为 1.4 的硫酸溶液,16%单宁溶液,50%

基金项目 妙府老酒指纹图谱的研究(20103702001014)。

收稿日期:2011-05-19; 修回日期 2011-08-11

作者简介 张颖,在读研究生,研究方向:生化反应工程与工艺。

通讯作者:王家林(1964-),男,博士,教授,硕士生导师,研究方向:酿酒科学与食品发酵,青岛市第三届青年科技奖,山东省轻工系统专业技术拔尖人才、中国啤酒杰出科技专家,国家啤酒评委、中国食协啤酒专业委员会技术委员会委员。

钼酸钠溶液,浓硫酸(无氮),催化片,溴甲酚绿(0.1%),氢氧化钠溶液(40%),硼酸溶液 40 g/L,硼酸指示剂混合液,盐酸标准液(0.1 mol/L),甲基红(0.1%),0.0001 mol/L 混合氨基酸标准溶液(购于日立公司),浓盐酸(优级纯),柠檬酸钠缓冲溶液。

## 1.2 设备

### 1.2.1 凯式定氮仪

消化条件:150 °C 消化 10 min;300 °C 消化 15 min;420 °C 消化 60 min。

### 1.2.2 氨基酸分析仪

柱的衍生条件:反应液 A:390 g 茚三酮 /L 丙二醇甲醚;反应液 B:醋酸钠 / 醋酸:丙二醇甲醚(60:40),供试品和对照品溶液进样量均为 20  $\mu$ L。

实验条件:钠型阳离子交换柱(4.6 mm $\times$ 60 mm),分析时间 35 min 流动相柠檬酸三钠缓冲液 (pH 3.2~4.9),四元梯度洗脱,缓冲液流速 0.4 mL/min,茚三酮流速 0.35 mL/min,缓冲液泵压力 8~11.5 Pa,茚三酮泵压力 0.9~1.2 kPa,柱温 50 °C,氮气压力 20 kPa。

## 1.3 方法

### 1.3.1 妙府老酒总氮含量的测定及隆丁区分

总氮:按 1.2.1 升温程序条件,每次吸取 5 mL 黄酒样品于 250 mL 消化管中,使用 Foss 凯式定氮仪进行样品测定。

隆丁区分:

单宁沉淀:取 100 mL 待测样品于 200 mL 容量瓶中,加 75 mL 蒸馏水及比重 1.4 的硫酸 4 mL,摇匀。容量瓶置于 20 °C 水浴中,保温 15~20 min 后加 10 mL 单宁溶液,再用蒸馏水定容,摇匀,立即用折叠滤纸过滤,此滤液可重复过滤直至滤清。

钼酸钠沉淀:取 100 mL 待测样品于 200 mL 容量瓶,加 75 mL 蒸馏水及 10 mL 钼酸钠溶液,摇匀。容量瓶于 20 °C 水浴中保温 15~20 min,加 10 mL 比重 1.4 的硫酸,再用蒸馏水定容,摇匀,立即用折叠滤纸过滤,此滤液可重复过滤直至滤清。

蒸干:取 3 支干燥干净的消化管,分别加入 10 mL 待测样品(总氮)和上述 1~2 中的滤液 20 mL,再分别加入浓硫酸 2~3 滴,小心蒸发干。将 3 支消化管自消化炉中取出,置于室温中冷却。

消化:按 1.2.1 升温程序条件消化。

蒸馏,按常规方法进行蒸馏。

滴定:用 0.1 N 盐酸标准液滴定馏出液,边滴定边摇瓶,边观察颜色的变化,直至馏出液颜色由绿色变为灰色,即为滴定终点。记录所消耗的酸量。

### 1.3.2 妙府老酒氨基酸含量的测定

取 20 mL 黄酒样品于水解管中,加 6 mol/L 盐酸 10 mL,滴入几滴苯酚,充氮后封管,置于 110 °C 烘箱中保持 22 h。取出冷却后经滤纸过滤到 50 mL 容量瓶中,用

超纯水反复冲洗水解管及滤纸,最后定容。取 1 mL 样液于蒸发皿中在蒸汽浴上蒸干,加超纯水重复 3 次,残留物用 0.02 mol/L HCl 定容至 10 mL,0.45  $\mu$ m 滤膜过滤,备用上机。按上述色谱条件,使用日立 L-8800 氨基酸全自动分析仪进行样品测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 妙府老酒总氮含量的测定

对样品中的总氮含量按方法进行测定分析,结果见表 1。

| 样品   | 含量    | 样品   | 含量    |
|------|-------|------|-------|
| 样品 1 | 1.302 | 样品 6 | 1.278 |
| 样品 2 | 1.289 | 样品 7 | 1.321 |
| 样品 3 | 1.311 | 样品 8 | 1.314 |
| 样品 4 | 1.308 | 平均值  | 1.303 |
| 样品 5 | 1.299 |      |       |

### 2.2 妙府老酒氨基酸含量的测定

对样品中的氨基酸进行测定分析,氨基酸谱图见图 1~图 2;样品中氨基酸的含量结果见表 2。

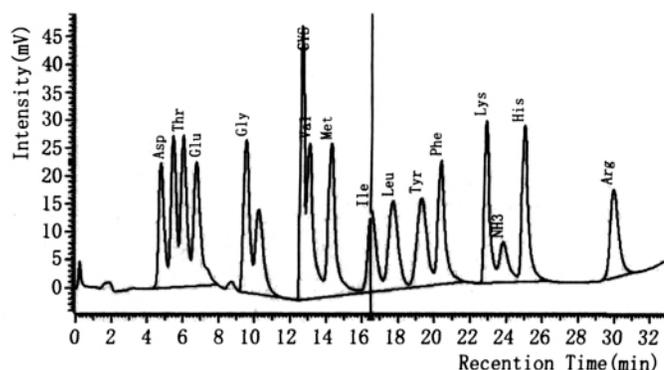


图 1 氨基酸混合标准溶液色谱图

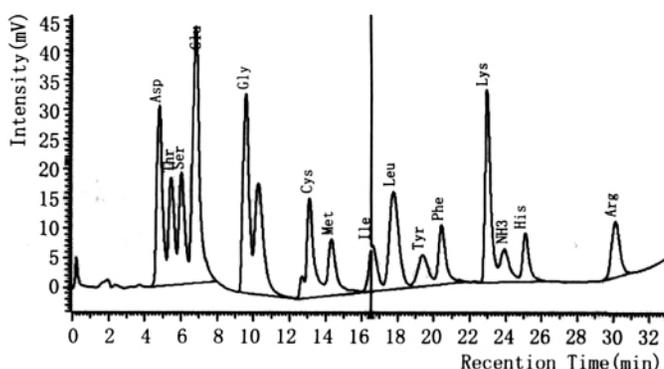


图 2 妙府老酒样品氨基酸色谱图

表 2 结果表明,妙府老酒中氨基酸种类比较丰富,含量比较高,达 3287.52 mg/L,是富含氨基酸型功能保健饮品。

表2 妙府老酒氨基酸含量测定结果

| 序号     | 保留时间(min) | 氨基酸名称 | 含量(mg/L) |
|--------|-----------|-------|----------|
| 1      | 4.80      | asp   | 13.64    |
| 2      | 5.49      | thr   | 86.35    |
| 3      | 6.05      | ser   | 152.20   |
| 4      | 6.80      | glu   | 379.93   |
| 5      | 9.56      | gly   | 139.00   |
| 6      | 10.29     | ala   | 356.00   |
| 7      | 12.67     | cys   | 16.25    |
| 8      | 13.08     | val   | 274.07   |
| 9      | 14.31     | met   | 285.91   |
| 10     | 16.57     | ile   | 117.64   |
| 11     | 17.75     | leu   | 224.40   |
| 12     | 19.35     | tyr   | 160.76   |
| 13     | 20.39     | phe   | 262.83   |
| 14     | 22.89     | lys   | 125.71   |
| 15     | 23.85     | his   | 72.45    |
| 16     | 25.03     | arg   | 274.93   |
| 17     | 29.99     | pro   | 345.45   |
| 氨基酸总含量 |           |       | 3287.52  |

## 3 结论

利用凯式定氮法和氨基酸自动分析仪测定黄酒中总氮及氨基酸的含量。该方法样品处理简便易操作,可对妙府老酒中总氮及氨基酸直接进行分析,能快速、准确地判定黄酒中总氮及氨基酸的含量。为妙府老酒中总氮及氨基酸的定量分析、质量评价提供可行的理论依据。

## 参考文献:

- [1] 林峰,白少勇.流动注射光度法测定黄酒中蛋白质的含量和分子量分布[J].分析化学研究简报,2005,33(10):1459-1461.
- [2] 丁永胜,牟世芬.氨基酸的分析方法及其应用进展[J].色谱,2004,22(3):210-215.
- [3] 诸葛庆,李博斌,刘兴泉,郑云峰.用离子色谱法分析研究黄酒中的氨基酸[J].酿酒科技,2008(4):108-111.
- [4] 任一平,黄百芬,高宗裕,叶洁.应用 HPLC 柱后衍生法测定黄酒中的游离氨基[J].食品与发酵工业,1992(3):67-71.
- [5] 宋志峰,王丽,金卫东,黄璜,田志刚,魏建勋,王红娟.HPLC-二极管阵列-荧光检测联用技术快速测定黄酒游离氨基酸[J].农产品科技,2007,1(4):21-24.

## 食用酒精安全氮源新选择——安琪发酵促进剂

本刊讯 随着 GB2760—2011 新规的出台,国家再一次加强了对食品安全的监管力度,标准中明令禁止在食用酒精发酵过程中添加尿素,并对硫酸铵、硫酸等助剂做出了使用规范要求。食品安全法的修订与完善也再次对广大食用酒精生产企业的规范操作敲响了警钟。

对于该规定的出台,不少食用酒精厂顿时陷入了深深的困惑中:用了那么多年的尿素、硫酸,如今在维护食品安全的大环境下,不得不停止使用,那么,如何来调整发酵中的 pH 值来抑制杂菌,保证酵母发酵?怎样给酵母提供符合法规要求的氮源确保其正常旺盛,顺利实现生产?食用酒精行业,站在食品安全的十字路口,应该何去何从?

民以食为天,安全需当先!作为国内酵母行业领军企业,安琪酵母股份有限公司在一如既往为酒精行业提供优质酵母的同时,也针对目前这一现状,投入大量的研发精力,针对酵母生长所需营养组分,研发出食用酒精生产中安全健康高效的发酵营养源——安琪发酵促进剂,以取自酵母的营养培养酵母,以安全健康的有机氮源服务酒精生产。

目前,国内已有多个大型食用酒精生产企业采用发酵促进剂作为新的速效氮源,在发酵中替代尿素、硫酸等营养进行添加,据了解,发酵促进剂的使用,完全可以替代尿素在发酵中所起到的作用,实现了合法化、安全化。作为有机氮源,发酵促进剂更利于酵母对营养物质的吸收,而且能有效加快酵母繁殖及代谢葡萄糖的速度,将主发酵时间缩短,为进一步提高酒精生产浓度储备较大空间。

安琪发酵促进剂,不但是安全、高效的营养助剂,更是优化发酵系统,提升发酵指标的改良助剂。安琪公司愿携发酵促进剂,在狠抓食品安全的大环境下,与广大食用酒精生产企业共同为人类创造健康新生活。(赵发)

## 茅台葡萄酒拓展国内高端消费市场

本刊讯 据《糖酒快讯-食品资讯》报道,在进入葡萄酒生产领域 9 年之际,生产高端白酒的贵州茅台集团决意在高端葡萄酒领域拓展新的商机。

茅台葡萄酒公司总经理钟怀利近日在杭州出席活动时表示,作为茅台集团重点发展子战略项目之一的茅台葡萄酒庄园,2011 年 9 月 23 日在位于河北昌黎的观光葡萄沟动工。该项目投资近 5 亿元,年产高端庄园葡萄酒 1000 吨,标志着茅台葡萄酒大力拓展高端人群和消费市场战略的开始。近年来,茅台集团频频在葡萄酒领域开疆拓土。钟怀利介绍,茅台葡萄酒 2010 年销量接近 2 亿元,跻身国内葡萄酒行业 10 强。他表示,有信心在接下来的一年使其销量跻身全国葡萄酒行业第 6 位到第 7 位,并在 3 年内实现公司上市。“茅台之所以进军葡萄酒市场,是基于中国国内葡萄酒消费的日益升温,以及对高端葡萄酒消费的日益追捧”。钟怀利表示,茅台希望走高端而非工业化生产的路线,通过差异化竞争,从而占领高端消费市场。(小小荐)

来源 糖酒快讯-食品资讯 2011-09-27