

咂酒的氨基酸组成及营养评价

张楷正,曹新志*,肖雄峻

(四川理工学院 生物工程学院,四川 自贡,643000)

摘 要 采用全自动氨基酸分析仪测定了几种咂酒和参照酒样——黄酒中的氨基酸含量,结果表明咂酒和黄酒均至少含有 17 种人体所需氨基酸,咂酒中的氨基酸总量稍低于绍兴黄酒,但是传统咂酒和成品咂酒的必需氨基酸总量高于黄酒;采用氨基酸比值系数法对咂酒和黄酒的氨基酸进行营养评价及分析,发现咂酒的第一限制氨基酸是赖氨酸,黄酒的第一限制氨基酸是胱氨酸或蛋氨酸,成品咂酒中的氨基酸营养价值最高,其次是传统咂酒和小试咂酒,黄酒居末。以新的营养评价方法——线性回归分析法进行分析,结果具有相似性,只是黄酒的氨基酸营养价值大于小试咂酒。

关键词 咂酒;氨基酸;营养评价

咂酒是我国西南少数民族所特有的一种饮品,其风味独特、营养丰富、酸甜爽口,深受当地民众喜爱。传统咂酒的酿造一般是以整粒青稞煮熟拌曲后,直接装坛固态发酵数周或更长时间,至酒成熟。之后在坛中插入中空竹管集体咂饮,同时渐次加入温开水,吮吸至味淡为止。为了满足游客和更多消费者的需求,我们在其传统酿造工艺的基础上,采用原料中适当添加大米,糖化发酵时加入纯种米曲和酒母(酵母)等现代工艺技术、措施,经过小试试验及中试试验,最终实现了咂酒酿造的工业化,生产出了成品瓶装咂酒^[1]。

低度酿造酒与蒸馏酒的显著区别之一,就是原料中许多益于人体健康的物质,通过溶解或参与生物发酵转变过程,最后相当部分仍然保留在成品酒液中。所以,低度酿造酒的营养价值,总体上高于蒸馏酒。如啤酒被誉为“液体面包”、黄酒更是被称为“液体蛋糕”。咂酒与黄酒类似,其营养功效同样不容忽视。

蛋白质是谷类作物中除淀粉外,含量较多的成分,一般在 6%~11%。酿酒原料中的蛋白质,在发酵过程中,被微生物分解代谢,或直接被 pH 值较低的醪液水解成氨基酸。所以,低度酿造酒中往往含有

相当数量的氨基酸。氨基酸是人体重要的营养物质,分非必需氨基酸和必需氨基酸。必需氨基酸是人体或其它脊椎动物自身无法合成的,必须从食物或饮料中获取。缺乏必需氨基酸,人体易罹患诸多疾病甚至死亡。

咂酒中的氨基酸组成研究,至今未见报道。本文以传统咂酒、小试咂酒和成品咂酒为研究材料,以绍兴黄酒为参照酒样,检测其中的氨基酸含量,并进行营养评价与分析,以期填补咂酒研究的一些空白,为咂酒的营养功效提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

传统咂酒:来自四川阿坝州理县米亚罗镇,用传统羌族咂酒酿造工艺酿制而成。原料为 100% 青稞、曲为小曲,固态糖化发酵 2 周后,加原料质量 70% 的温开水浸提而得。为研究需要,用正压桶式过滤器(0.45 μm)过滤并灭菌(80 ℃,10 min)后贮于冰箱中保存备用。2012 年酿造。简记为 TZW (Traditoinal Za Wine)。

小试咂酒:原料为 70% 的青稞和 30% 的大米,100 kg 规模小试试验咂酒,2010 年产品。简记为 PZW (Pre-pilot trial Za Wine)。

成品咂酒:成品咂酒由四川阿坝州高原绿谷食品有限公司提供,原料为 70% 的青稞和 30% 的大米,采用工业化咂酒酿造技术生产,2012 年产品。简记为 CZW (Commercial Za Wine)。

黄酒:为绍兴古越龙山黄酒公司生产,原料为糯

第一作者:博士,副教授(曹新志教授为通讯作者,E-mail:caoxin-zhi@163.com)。

基金项目:泸州老窖科研奖学金项目(13ljzk08);四川理工学院人才引进项目(2014RC26);四川省酿酒生物技术及应用重点实验室开放基金项目(NJ2015-07);四川省大学生创新创业训练项目(201410622026)

收稿日期:2015-10-07,改回日期:2015-11-17

米和麦曲,半干型,2012 年产品。简记为 YW (Yellow Wine),为参照酒样。

供试酒样的酒精度 7% ~ 13.8% vol,总糖 7 ~ 30 g/L(以葡萄糖计),总酸 5 ~ 9 g/L(以乳酸计),pH 3.8 ~ 4.2。

1.2 方法

1.2.1 主要实验仪器及试剂

L-8900 全自动氨基酸分析仪(日本 HITACHI 公司);正压桶式过滤器,浙江海宁过滤设备公司;电子天平,赛多利斯 BT25S,精度为 0.01 mg。三氯乙酸,四川长征化玻试剂公司;HCl,36%,四川长征化玻试剂公司。

1.2.2 试验方法

1.2.2.1 氨基酸的测定

酒样中氨基酸检测采用日立 L-8900 全自动氨基酸分析仪的程序及方法,即 53 min 短程序(包括洗柱冲柱时间)。供试酒样预先用三氯乙酸沉淀去除蛋白质,用重蒸水稀释 5 倍,取 5 mL 在 50 ℃ 烘箱中反复烘干 3 次,残渣用 0.02 mol/L 的 HCL 溶液定容到 5 mL,离心,取上清液上机检测。

1.2.2.2 氨基酸的评价方法

(1) 氨基酸比值系数法

对某种食品或饮料中的氨基酸进行评价,不仅要考察氨基酸总量(TAA),同时还要分析其中的必需氨基酸(EAA)的情况。必需氨基酸一般考察以下 3 个方面:1 是 EAA 的种类;2 是 EAA 的数量;3 是 EAA 的组成比例。食品所含 EAA 的组成比例越接近于人体需要的氨基酸比例,越容易被人体吸收,则其质量就越优^[2]。根据世界卫生组织和联合国粮农组织(WHO/FAO) 1973 年提出的蛋白质营养价值的评价方法——氨基酸比值系数法^[3],计算样品中 EAA 的氨基酸比值(RAA)、氨基酸比值系数(RC),最后计算求得氨基酸比值系数分(SRC)。以 SRC 数值的大小来进行氨基酸营养价值的评价^[4]。计算公式如下:

$$RAA = \frac{\text{待评价食品中某种 EAA 含量}}{\text{WHO/FAO 中相应的 EAA 含量}} \quad (1)$$

RAA 含义实际为食品中某种 EAA 的含量是 WHO /FAO 推荐模式的 EAA 值的多少倍。

$$RC = \frac{RAA}{RAA \text{ 的平均值}} \quad (2)$$

如果样品中各 EAA 含量与 WHO /FAO 推荐模式的 EAA 含量一致,则各 EAA 的 RC 值等于 1;RC < 1 或 R > 1,表示该种必需氨基酸偏离了 WHO/FAO

推荐的氨基酸模式。亦即 RC < 1 表明该种 EAA 含量相对过低,R > 1 表明该种 EAA 含量相对过高。RC 值最小者为此蛋白氨基酸的第一限制性氨基酸。

$$\text{氨基酸比值系数分 SRC} = 100 - (CV \times 100) \quad (3)$$

CV 为 RC 的变异系数,即 CV = RC 的标准差/均值。

如果供试样品的 EAA 组成比例与 WHO /FAO 推荐的 EAA 模式完全一致,说明样品中氨基酸完全符合人体的需求,营养价值就大,则 SRC = 100, CV = 0。也就是说,氨基酸比值系数的 CV 越小, SRC 就越接近 100,那么样品的营养价值就越高;氨基酸比值系数的 CV 越大, SRC 相对的越小,那么供试样品的营养价值就越低。

(2) 线性回归分析法

相关系数(R)或称线性相关系数,是衡量两个事物相似、相符或相互依赖程度的数值。相关系数越大,说明两个事物符合或相关的程度越高。通过考察供试酒样中的 7 组 EAA 的数据与 WHO/FAO 的推荐模式中对数据的相关关系,可以判断该酒样的氨基酸营养价值。

方法是:首先将 WHO/FAO 推荐模式中的 7 组必需氨基酸数据与供试样品中该 7 组氨基酸数据进行线性回归分析,以 DSP12.05 统计软件计算相关系数、残差率、Cook 距离比,以此 3 个指标来评价供试酒样中氨基酸的营养价值。相关系数 R 越大,该酒样的氨基酸营养价值越大;残差率或 Cook 距离比越大,则其营养价值越低,其中:

$$\text{残差率} = \frac{\sum \text{残差}}{\sum \text{观察值}} \quad (4)$$

$$\text{Cook 距离比} = \frac{\sum \text{cook 距离}}{\sum \text{观察值}} \quad (5)$$

2 结果与分析

2.1 供试酒样的氨基酸含量

因酒样的 pH 值较低,所以样品中色氨酸已经降解,只有另外 17 种氨基酸的测定数据。各酒样的氨基酸测定结果见表 1。

从表 1 可以看出,供试的 4 种酒样中均检测出了 17 种人体所需氨基酸,其中均包含 7 种人体必需氨基酸。从氨基酸总量(TAA)来看,黄酒最多,为 3 093.4 mg/L;其次是传统咂酒(TZW),为 2 874.8 mg/L;成品咂酒位居第 3,为 2 041.9 mg/L,小试咂酒名列最后。黄酒酿造中麦曲用量达 10% ~ 15%,可

能是其氨基酸总量较高的主要原因。

成品咂酒中,以亮氨酸和丙氨酸的含量最高,达到 270 ~ 280 mg/L 左右,其次为天冬氨酸(189.9 mg/

表 1 供试酒样的 17 种氨基酸含量¹⁾ 单位:mg/100mL

Table 1 The amino acid contents in tested wines

氨基酸	YW	PZW	CZW	TZW
Asp	16.29	10.01	18.99	9.55
Thr	6.58	3.14	13.77	8.64
Ser	13.91	4.80	15.48	7.22
Glu	27.85	7.23	1.29	12.92
Gly	19.03	4.60	13.35	14.20
Ala	43.44	11.06	27.87	42.94
Cys	1.14	1.03	0.76	6.43
Val	13.16	5.67	14.83	20.45
Met	2.63	4.42	7.55	7.27
Ile	8.47	3.80	9.63	16.70
Leu	26.38	15.25	28.63	45.59
Tyr	23.75	7.46	11.93	8.19
Phe	17.60	12.28	14.03	23.53
Lys	12.81	3.22	9.58	11.92
His	4.26	0.63	2.98	6.66
Arg	40.85	1.07	1.44	5.97
Pro	31.20	14.96	12.08	39.31
TAA	309.34	110.62	204.19	287.48
EAA	87.63	47.78	98.02	134.1
NEAA	221.71	62.84	106.17	153.38
EAA/TAA	28%	43.2%	48%	46.6%
EAA/NEAA	40%	76%	92%	87%

注:1)TAA,氨基酸总量;EAA,必需氨基酸;NEAA,非必须氨基酸。

L);传统咂酒与成品咂酒类似,只是位居第 3 的是脯氨酸;小试咂酒中亮氨酸和脯氨酸位列第 1 和第 2,其次是苯丙氨酸、丙氨酸和天冬氨酸。黄酒中以丙氨酸、精氨酸和脯氨酸最多。总体上 3 种咂酒的主量氨基酸大同小异,具有相似性,区别于黄酒中的主量氨基酸。

小试咂酒与成品咂酒的原料相同,酿造工艺也一样,但是其氨基酸总量差别较大,小试咂酒只有成品咂酒的一半。分析其原因,一是小试咂酒的酿造时间较早(2010 年),约早于成品咂酒两年以上;另外小试咂酒杀菌装瓶后(500 mL),在成都地区自然温度下贮存,温差变化大,导致了较多沉淀的产生,减少了氨基酸数量。而成品咂酒贮存在几十千升的大罐里,贮酒罐位于阿坝州高原地区工厂的地下室酒库,阴凉干燥,温度低(不超过 20℃),温差变化不大,其氨基酸损失比小试咂酒少。由此可见,从营养角度出发,酿造酒并非越陈越好,同时需要一定的贮藏环境条件。

2.2 供试酒样的氨基酸评价结果

2.2.1 氨基酸比值系数法的评价结果

在氨基酸评价中,除氨基酸总量外,另外更为重要的指标是人体必需氨基酸的含量及比例。

首先从含量分析。由实验结果可见,EAA 的总量以传统咂酒最多,为 1 341 mg/L,其次是成品咂酒,为 980.2 mg/L,黄酒和小试咂酒名列第 3 和第 4 位。从必需氨基酸占总氨基酸的比例来看,成品咂酒最高(48%),其次是传统咂酒(46.6%),小试咂酒(43.2%)列第 3,黄酒中 EAA 比例相对最低(28%),测试酒样的 EAA/NEAA 的排列位次与此相同。必需氨基酸含量的分析结果表明,与同样数量的黄酒相比,饮用传统咂酒和成品咂酒能得到更多的人体必需氨基酸。

其次,从 EAA 的构成比例来分析。营养学研究的结果表明,鸡蛋和人奶的氨基酸构成很接近人体需要量。于是,1973 年世界卫生组织和联合国粮农组织(WHO/FAO)提出了食品中必需氨基酸组成的模式比例,即苏氨酸:胱氨酸+蛋氨酸:缬氨酸:异亮氨酸:亮氨酸:苯丙氨酸+酪氨酸:赖氨酸:色氨酸=40:35:50:40:70:60:55:10。由于膳食中胱氨酸与酪氨酸充裕时,可节省 30% 的蛋氨酸和 50% 的苯丙氨酸,所以 FAO/WHO 在考虑食物的必需氨基酸组成时,将芳香族氨基酸的苯丙氨酸和酪氨酸、含硫氨基酸的蛋氨酸和胱氨酸分别合并计算。按照该模式比例摄取食物,氨基酸能被充分利用。如果食品中氨基酸比例偏离该模式比例,会降低该食品的蛋白质营养价值。同时,WHO/FAO 还提出了评价氨基酸营养价值的方法—氨基酸比值系数法(公式 1、公式 2 及公式 3)。根据实验测试结果及 WHO/FAO 的计算方法,对 4 种酒样的氨基酸进行评价,结果见表 2。

表 2 供试酒样氨基酸评价

Table 2 The assessing of amino acid in tested wines

酒样	YW		PZW		CZW		TZW	
评价指标	RAA	RC	RAA	RC	RAA	RC	RAA	RC
苏氨酸	0.26	0.56	0.13	0.53	0.55	1.13	0.35	0.54*
CYS + MET	0.17	0.37*	0.25	1.04	0.38	0.78	0.62	0.96
缬氨酸	0.42	0.91	0.18	0.77	0.48	0.98	0.66	1.02
异亮氨酸	0.34	0.73	0.15	0.64	0.39	0.79	0.67	1.04
亮氨酸	0.60	1.29	0.35	1.45	0.65	1.34	1.04	1.61
Phe + Yyr	1.09	2.34	0.52	2.18	0.68	1.40	0.83	1.29
赖氨酸	0.38	0.81	0.09	0.40*	0.28	0.58*	0.35	0.54*
SRC	34.51		37.24		69.35		61.68	

注:*第一限制氨基酸。

表 2 显示,成品咂酒(CZW)和小试咂酒(PZW)

的第一限制氨基酸都是赖氨酸,传统啤酒(TZW)的限制氨基酸为苏氨酸和赖氨酸,黄酒的第一限制氨基酸是胱氨酸+蛋氨酸。四种酒样中,成品啤酒的RC的变异系数最小,其氨基酸比值系数分一SRC最高,达到69.35,即其氨基酸营养价值最大;其次为传统啤酒,其SRC为61.68,小试啤酒位居第3,黄酒氨基酸的营养价值居末。

2.2.2 线性回归分析法的评价结果

采用DPS12.05统计软件,通过对供试酒样中的EAA的数据与WHO/FAO推荐模式中对对应数据的线性回归分析,发现四种酒样与WHO/FAO推荐模式的相关(符合)程度均较高,除小试啤酒外均达到显著相关程度($P<0.05$)(表3)。

其相关系数R从大到小分别是:成品啤酒的R(0.8557)>传统啤酒的R(0.8537)>黄酒的R(0.8098)>小试啤酒的R(0.7528)。相关系数R

越大,表明两组数据的相关或拟合程度越高。可见,成品啤酒中EAA组成最符合WHO/FAO的推荐模式,其氨基酸营养价值最高,其次是传统啤酒,黄酒和小试啤酒列第3和第4。

从残差率来考察,小试啤酒的残差率(0.3815)>黄酒的残差率(0.3088)>传统啤酒的残差率(0.2327)>成品啤酒的残差率(0.1806)。残差是真实值(观察值)与线性拟合值的差。相同情况下,残差值越大,说明真实值(观察值)与拟合值的符合程度越小。由于考察对象的真实值大小或(和)量纲不同,一般以残差率(公式4)来衡量考察对象的相关或符合程度。由表3可见,成品啤酒的残差率最小,表明它的EAA组成最符合WHO/FAO的推荐模式,其氨基酸营养价值最高,其次是传统啤酒,黄酒和小试啤酒列第3和第4。该结论与相关系数的分析结果完全相同。

表3 供试酒样氨基酸的线性回归分析结果
Table 3 The results of linear regression analysis for amino acids in tested wines

YW				CZW			
观察值	拟合值	残差	Cook 距离	观察值	拟合值	残差	Cook 距离
6.58	7.551 9	-0.971 9	0.002 8	3.14	4.073 9	-0.933 9	0.008 2
3.77	3.484 4	0.285 6	0.000 5	5.45	2.181 6	3.268 4	0.215 7
13.16	15.686 9	-2.526 9	0.008 5	5.67	7.858 4	-2.188 4	0.020 2
8.47	7.551 9	0.918 1	0.002 5	3.8	4.073 9	-0.273 9	0.000 7
26.38	33.312 7	-6.932 7	1.004 7	15.25	16.058	-0.808	0.043 3
41.35	25.17 77	16.172 3	0.857 4	19.74	12.273 6	7.466 4	0.579 4
12.81	19.754 4	-6.944 4	0.076 2	3.22	9.750 6	-6.530 6	0.2135
R		0.809 8 *		R		0.855 7 *	
残差率		0.308 8		残差率		0.108 6	
Cook 距离比		0.017 4		Cook 距离比		0.008 2	

PZW				TZW			
观察值	拟合值	残差	Cook 距离	观察值	拟合值	残差	Cook 距离
3.14	4.073 9	-0.933 9	0.008 2	8.64	12.413	-3.773	0.055 7
5.45	2.181 6	3.268 4	0.215 7	13.67	8.199 4	5.470 6	0.250 7
5.67	7.858 4	-2.188 4	0.020 2	20.45	20.840 1	-0.390 1	0.000 3
3.8	4.073 9	-0.273 9	0.000 7	16.7	12.413	4.287	0.071 9
15.25	16.058	-0.808	0.043 3	45.59	39.099	6.491	1.158 1
19.74	12.273 6	7.466 4	0.579 4	31.72	30.671 8	1.048 2	0.004 7
3.22	9.750 6	-6.530 6	0.213 5	11.92	25.053 7	-13.133 7	0.358 1
R		0.752 8		R		0.853 7 *	
残差率		0.381 5		残差率		0.232 7	
Cook 距离比		0.019 2		Cook 距离比		0.012 8	

注: * 显著相关($P<0.05$)。

Cook 距离是当今统计诊断中最重要的诊断统计量之一,最初是由Cook在1977年基于参数置信域的统计意义提出来的^[5]。Cook距离是标准化残差和杠杆度两者的合成指标,其值越大,表明对应的观测值

对回归模型的影响越大,即该观测值很可能属于异常点或称“有害点”^[6]。由于研究对象观察值大小或(和)量纲不同,我们以Cook距离比(公式5)来衡量研究对象之间的符合程度。Cook距离比越大,表明

研究对象总体上“有害点”比率更高,亦即该酒样的 EAA 组成与 WHO/FAO 推荐模式比例的相异性更大。从表 3 可以看出,成品咂酒(CZW-H)的 Cook 距离比(0.008 2)最小,表明其 EAA 组成与 WHO/FAO 的推荐模式相异性最小,其氨基酸营养价值最大,传统咂酒的氨基酸营养价值排名第 2,黄酒和小试咂酒分列 3、4 位。可以发现,以 Cook 距离比来判断的供试酒样的氨基酸营养价值排名,与以相关系数和残差率来评价的结果完全相同,表明我们的回归分析是有效和适用的。

蛋白质或氨基酸营养价值评价,方法较多,各有优缺点。本研究从线性回归分析入手,同时给出 3 个评价指标,为食品或饮料中氨基酸营养价值分析提供了一种新的方法。

3 结论与讨论

咂酒中的氨基酸总量低于绍兴黄酒,但是人体必需氨基酸总量高于黄酒;同时咂酒的第一限制氨基酸是赖氨酸,黄酒的第一限制氨基酸是胱氨酸或蛋氨酸。以氨基酸比值系数法进行的营养评价表明,成品咂酒中的氨基酸营养价值最高,其次是传统咂酒和小试咂酒,黄酒居末。以线性回归分析法进行分析,则成品咂酒、传统咂酒、黄酒和小试咂酒依次名列第 1 至第 4 位。成品黄酒的氨基酸营养价值高于传统咂

酒和小试咂酒,可能与原料中适量添加大米、采用纯种米曲和酒母进行生产,发酵较为充分完全,同时注重其贮藏环境条件有关。与黄酒相比,二者的原料不同,应该是其营养价值差异的主要原因。

总之,通过研究分析可以得出,咂酒的氨基酸种类齐全,人体必需氨基酸含量较多,且其比例较为符合 WHO/FAO 推荐模式,特别是成品咂酒的 SCR 达 69.35,具有较高的营养价值。

参 考 文 献

- [1] ZHANG Kai- Zheng, DENG Kai, LUO Hui-Bo, et al Antioxidant properties and phenolic profiles of four Chinese Za wines produced from hull-less barley or maize[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2013, 119(3): 182 - 190.
- [2] 朱圣陶,吴坤. 蛋白质营养价值评价 - 氨基酸比值系数法[J]. 营养学报, 1998(10):187 - 190.
- [3] FAO/WHO. Energy and protein requirements[S]. FAO Nutrition Meeting Report series, 1973:52 - 63.
- [4] 钱爱萍,林虬,余亚白,等. 闽产柑橘果肉中氨基酸组成及营养评价[J]. 食品科学, 2008, 24(6):86 - 90.
- [5] Cook R D, Detection of influential observation in linear regression[J]. Technometrics, 1977, 19(1): 15 - 18.
- [6] 丁旭,陈喜凤,袁豹等. 基于 Cook 距离的 GPS 高程拟合点优选[J]. 科技创新导报,2010,(20): 81 - 82.

Amino acid compositions and nutritional evaluation of Za wine

ZHANG Kai-zheng, CAO Xin-zhi*, XIAO Xiong-jun

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

ABSTRACT The amino acid (AA) compositions of Za wines and yellow wine (YW, sample wine) were analyzed using automatic amino acid analyzer. The results showed that Za wines and YW contained at least 17 kinds of amino acids needed by human body. The content of total amino acids in Za wine was less than that in YW, but the contents of total essential amino acids (EAA) in traditional Za wine of Lixian (TZW) or commercial Za wine from hull-less barley (CZW) were higher than that in YW. Based on the obtained data, the score of ratio coefficient of amino acid (SRCAA) was used to evaluate the amino acid nutritional values of analyzed wines. It indicated that the first limiting AA in Za wine was Lys, while that in YW was Cys or Met. The AA nutritional value of CZW exceeded those of TZW and PZW (Pre-pilot trial Za wine) and was the highest among these analyzed wines, while AA nutritional value of YW was the lowest. Meanwhile, the results from a new method—the linear regression analysis were similar to those of SRCAA method except that the AA nutritional value of YW exceeded that of PZW.

Key words Za wine; amino acid; nutritional evaluation