

## 超滤法生产的纯生黄酒非生物稳定性的研究

朱一松<sup>1</sup> 赵光鳌<sup>1</sup> 帅桂兰<sup>1</sup> 魏运平<sup>1</sup> 邹慧君<sup>2</sup> 谢广发<sup>2</sup>

(江南大学生物工程学院沙多利斯过滤实验室,无锡,214036) (中国绍兴黄酒集团公司,绍兴,312000)

**摘要** 用截留分子质量为 30 000 u 和 10 000 u 的超滤膜对生黄酒进行过滤,定量测定了与黄酒非生物稳定性有关的几种物质——酶、蛋白质、多酚、铁离子、戊聚糖等,并且通过光散射实验,考查了超滤前后酒液中平均粒度的变化。结果表明,超滤处理后,酒液中淀粉酶、糖化酶和蛋白酶都能达到去除的要求;蛋白质、多酚、铁离子、戊聚糖等物质的含量均呈减少的趋势,而且超滤处理后的酒样平均粒度降低,从而说明了超滤技术对纯生黄酒的非生物稳定性起到了一定的提高或改善作用。

**关键词** 纯生黄酒 超滤技术 非生物稳定性

黄酒是一种多成分的复杂的胶体体系,其稳定性具有一定的相对性<sup>[1]</sup>。引起黄酒不稳定性因素很多,一般可分为生物因素和非生物因素 2 个方面,前者是由微生物污染引起的,可通过彻底杀菌和预防染菌来解决;后者则是由蛋白质、多酚、戊聚糖、铁离子等引起的,主要分为蛋白质浑浊和金属离子浑浊(以铁离子浑浊较为突出)<sup>[2-5]</sup>,其防止方法也有多种。

传统黄酒生产中,采用煎酒来去除其中的酶和蛋白质等,以达到提高稳定性的目的,但同时酒液会产生较重的老酒味,新鲜感较差。而纯生黄酒则是在发酵成酒后不经过任何加热,根据这一特点,在其生产过程中引入了超滤技术。文中对在纯生黄酒生产中采用超滤技术,从而提高了高酒的非生物稳定性这一情况进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

生黄酒:刚压榨出来不添加糖色的黄酒;由某黄酒厂提供;纯生黄酒 A:生黄酒经截留分子质量为 30 000 u 的超滤膜过滤后所得的酒样;纯生黄酒 B:生黄酒经截留分子质量为 10 000 u 的超滤膜过滤后所得的酒样;干酪素(化学纯):中国医药(集团)上海化学试剂公司生产;间苯三酚(进口分装):中国医药(集团)上海化学试剂公司生产。

铁试剂:日本和光纯药工业株式会社生产; $D-(+)-xylose$ (木糖):日本和光纯药工业株式会社生产。其他试剂均为分析纯。

### 1.2 主要仪器

VIVASCIENCE 过滤装置:德国沙多利斯公司

制造;消化仪:2006 Digestor, Foss Tecator;自动凯氏定氮仪:2300 kjeltec analyzer unit, Foss Tecator;UV-754 分光光度计:上海精密科学仪器有限公司制造;Autosizer 4700 粒度分析仪:Malvern Instruments Ltd 制造。

### 1.3 分析方法

(1)糊精的测定:铁氰化钾滴定法<sup>[6]</sup>。

(2)蛋白质的测定:改良的凯氏定氮法<sup>[7,8]</sup>。

(3)蛋白质隆丁区分的测定:单宁沉淀法和磷酸沉淀法<sup>[7,8]</sup>。

(4)生黄酒中酶活力的测定:淀粉酶活力的测定,分光光度计法;糖化酶活力的测定,硫代硫酸钠滴定法;蛋白酶活力的测定,福林法<sup>[6]</sup>。

(5)粒度的测定(光散射实验)<sup>[9,10]</sup>:分别取生黄酒、纯生黄酒 A、纯生黄酒 B 进行光散射实验,测定粒度。测定条件如下:细胞类型:ZET5110;波长:532.0 nm;温度:25.0℃;分散剂折光率:1.33;分散剂粘度:0.890 cp;检测角度:90.00°。

(6)戊聚糖含量的测定:采用间苯三酚-盐酸法<sup>[11]</sup>。将超滤前后的酒样稀释 5 倍,取 0.4 mL 于具塞的比色管中,补水至 2.0 mL,然后加入新鲜配制的提取液 10 mL(冰乙酸 110 mL、浓盐酸 2 mL、20% 用无水乙醇配制的间苯三酚 5 mL、1.75% 葡萄糖 1 mL),沸水中水浴 25 min,用冷水迅速冷却后,分别在波长为 552 nm 和 510 nm 测定吸光值。同时用 2.0 mL 蒸馏水代替酒样做空白。

按 Douglas 法绘制标准曲线,如图 1 所示。

从图 1 可以看出,在 0~175  $\mu\text{g}/2\text{ mL}$  范围内,吸光值与木糖浓度呈线性关系,其线性相关系数为 0.9977,基本满足戊聚糖的测定要求。

(7)总多酚的测定:分光光度计法<sup>[7,8]</sup>。

第一作者:硕士研究生。

收稿时间:2004-06-11;改回时间:2004-08-02

(8)铁离子的测定:火焰原子吸收法<sup>[8]</sup>。样品处理 称取 5.0000 g 酒样于坩埚中,用小火加热至炭化无烟,550℃马沸炉灰化 4~5 h,冷却后加入 0.5 mL 浓硝酸溶解灰分(溶解时用电炉稍稍加热),用超纯水定容至 25 mL。

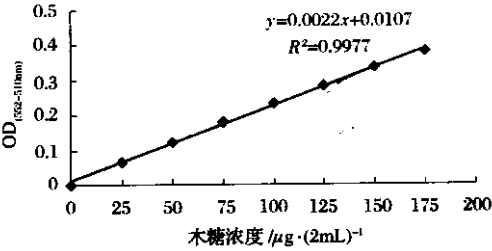


图 1 木糖浓度-吸光度标准曲线

2 结果与讨论

2.1 超滤除酶对纯生黄酒非生物稳定性的影响

刚压榨出来的生黄酒中残余有多种酶(如蛋白酶、糖化酶、α-淀粉酶等),在贮藏过程中会与蛋白质和淀粉等物质发生作用,使酒体出现浑浊、失光、沉淀等现象,从而对黄酒的稳定性和品质产生影响。由于在纯生黄酒的生产过程中,超滤技术起到了除酶的作用,因此文中研究了超滤除酶对纯生黄酒非生物稳定性的影响。鉴于实验中已经对纯生黄酒超滤除酶的效果进行了研究,这里就不另外列表说明<sup>[12]</sup>。

从实验结果可以看出,纯生黄酒 A 和纯生黄酒 B 中的淀粉酶、糖化酶和蛋白酶的去除率均在 90% 以上,说明经超滤处理后所得的纯生黄酒中的酶基本上能达到去除的要求,从而可以避免因酶本身可能引起的蛋白质浑浊。因此,可以说明纯生黄酒的非生物稳定性得到了一定的提高。

2.2 影响纯生黄酒非生物稳定性的理化指标分析

非生物浑浊是因为黄酒的成分相对复杂,除了含有多醇、酸、酯外,还有蛋白质、糊精、多酚、铁离子等,这些物质由于受外界环境影响,如温度、空气、阳光、气压等因素,就会发生不同程度的生物、物理、化学、物化等变化,从而影响黄酒的稳定性<sup>[2,3,5]</sup>。因此,文中对纯生黄酒中的这些理化指标进行了测定分析,实验结果如表 1 所示。

表 1 超滤前后酒样理化指标的分析

	生黄酒	纯生黄酒 A	纯生黄酒 B
糊精/mg·mL <sup>-1</sup>	15.5	14.3	13.6
总多酚/mg·mL <sup>-1</sup>	18.04	14.75	12.30
铁离子/μg·g <sup>-1</sup>	2.10	1.76	1.57
总蛋白质/mg·mL <sup>-1</sup>	14.33	12.49	11.93

由于糖类物质(如糊精)在酒体中受乙醇作用,易从可溶性状态凝聚成不溶性而沉淀,而且糖分越高,越易产生沉淀<sup>[3]</sup>;蛋白质、多酚类物质、铁离子大多是由于相互之间发生作用,从而对黄酒的稳定性产生影响,如多酚类物质能以离子键、氢键等与蛋白质结合,形成蛋白质-多酚络合物,甚至使蛋白质变性沉淀<sup>[5]</sup>;铁离子具有催化作用,形成蛋白质-铁络合物,同时还能促进多酚氧化而加速蛋白质-多酚络合物沉淀的形成<sup>[13]</sup>。从表 1 可以看出,与生黄酒相比,纯生黄酒中这几种物质的含量均有所减少,从而降低了黄酒浑浊沉淀发生的几率,提高了纯生黄酒的非生物稳定性。

2.3 蛋白质对纯生黄酒非生物稳定性的影响

黄酒中蛋白质的含量极其丰富,在黄酒沉淀产生过程中,蛋白质是一个主要因素,它是铜、铁、盐、色素等沉积物的核心<sup>[5]</sup>。酒体中能稳定的是一些小分子蛋白质,而大分子质量的蛋白质是小分子质量的蛋白质受理化因素的影响聚合而成的,这些大分子质量的蛋白质都具有不稳定性,在受热时会发生变性,聚合成颗粒较大的物质,受重力作用而沉淀。同时由于酒体中大量盐类的电离作用,使蛋白质颗粒上的同性电荷破坏,从而使细微蛋白质颗粒发生相互作用而沉降<sup>[3-5]</sup>。文中对纯生黄酒中的蛋白质及其隆丁区分进行了分析,从而探讨了蛋白质对纯生黄酒非生物稳定性的影响,实验结果如表 2、图 2 和图 3 所示。

表 2 超滤前后酒样中蛋白质的分析 mg/mL

	生黄酒	纯生黄酒 A	纯生黄酒 B
总蛋白质	14.33	12.49	11.93
高分子蛋白质	1.988	0.9799	0.6170
中分子蛋白质	1.842	1.387	1.356
低分子蛋白质	10.50	10.12	9.957

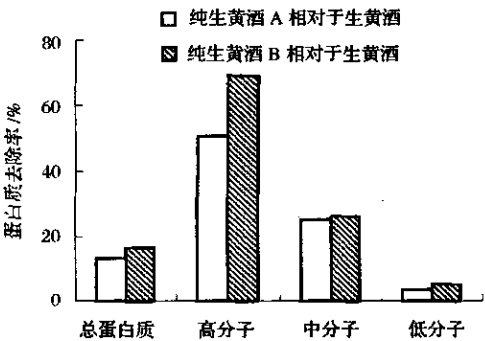


图 2 超滤前后蛋白质的去除率

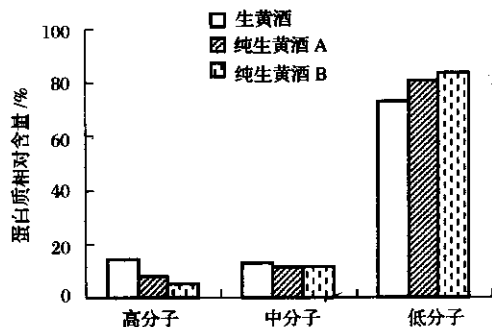


图3 超滤前后蛋白质的相对含量

从表2和图2可以看出,与生黄酒相比,纯生黄酒A和纯生黄酒B中总蛋白质含量以及高、中、低分子蛋白质的含量均减少,总蛋白质的去除率分别为12.81%和16.72%,其中高分子蛋白质的去除效果更为明显,去除率分别为50.71%和68.96%。而且从图3可以看出,经超滤处理后所得的纯生黄酒中高分子蛋白质的相对含量均减少,由生黄酒中的13.88%分别减小为7.85%和5.17%,这对提高黄酒的稳定性有较为明显的效果。而且截留分子质量愈小的超滤膜对蛋白质的去除效果越好,经该膜处理后的纯生黄酒的稳定性也较好。

#### 2.4 戊聚糖对纯生黄酒非生物稳定性的影响

戊聚糖是5个支链糖残基的聚合物,分子式为 $(C_5H_8O_4)_n$ 。黄酒中的戊聚糖主要来自原料,为不发酵性糖,是非淀粉多糖的一种,存在于酒体中易引起酒体雾浊,而且量大时,其它物质的沉淀也会附着着把它沉淀下来。同时它还具有较强的吸水性和持水性,可以与蛋白质竞争水分,使水与蛋白质结合的氢键断裂<sup>[11]</sup>,促进多酚、铁离子等与蛋白质的结合,而且它还能氧化交联形成凝胶体<sup>[14]</sup>,从而影响了黄酒的稳定性。文中测定了超滤处理前后的酒样中戊聚糖的变化,进一步讨论了超滤技术对纯生黄酒稳定性的影响,实验结果如图4所示。

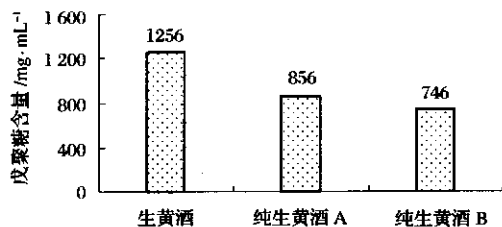


图4 超滤前后酒液中戊聚糖的测定

从图4可以看出,与生黄酒相比,纯生黄酒A和纯生黄酒B中戊聚糖含量呈减少的趋势,减少率分别为31.85%和40.61%,使得戊聚糖与蛋白质竞争

水分的能力减小。由于蛋白质具有水化作用和成膜作用,就使得蛋白质颗粒与其他的蛋白质颗粒、多酚、铁离子等相互隔开,这样,彼此之间就不会碰撞而聚合(或络合)成大颗粒,有利于酒体的稳定。

#### 2.5 粒度对纯生黄酒非生物稳定性的影响

光本质上是电磁波,当光波作用到介质中小于光波波长的粒子上时,粒子中的电子被迫振动,成为二次光源,向各个方向发射电磁波,这就是散射光波<sup>[10]</sup>。散射粒子相对于入射光波长很小时,散射中心各向同性,可以诱导极化,对光无吸收作用,其折射率不太大,粒子较大时,则散射光强度的角分布将发生改变,其对称性受到破坏,能散射较多的光<sup>[15]</sup>。因此,可以根据光散射现象测定胶体中的粒子大小。实验结果如图5所示。

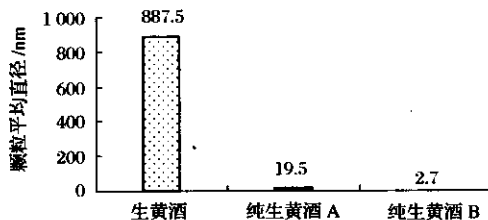


图5 超滤前后酒液平均粒度的测定

从图5可以看出,生黄酒的平均粒度为887.5 nm,而纯生黄酒A和纯生黄酒B的平均粒度明显降低,分别为19.5 nm和2.7 nm,这可能是因为超滤处理去除了一些高分子蛋白质、铁离子、多酚等,使酒体中那些聚合成大颗粒的前驱物质减少,降低了因高分子蛋白质的自然沉降而引起的浑浊,同时也降低了由铁离子、多酚等与蛋白质络合而产生的浑浊。这与前面的实验结果相符合,从而可以进一步说明超滤技术提高黄酒稳定性的效果是明显的。

### 3 结论

(1) 超滤处理后,纯生黄酒中的各种残余的酶(如淀粉酶、糖化酶、蛋白酶)均能达到去除的要求,其去除率均在90%以上,这样就减少了酶与蛋白质、淀粉等物质的作用,从而保证了纯生黄酒在贮藏过程中的风味稳定,而且超滤处理后,酒体更澄清,不易出现失光等现象,提高了黄酒的稳定性。

(2) 实验中发现,与生黄酒相比,纯生黄酒A和纯生黄酒B中与非生物稳定性有关的一些物质,如蛋白质、多酚、铁离子、戊聚糖等的含量均有明显减少,其中高分子蛋白质减少率分别为50.71%和68.96%;总多酚的减少率分别为18.24%和

31.82% ;铁离子的减少率分别为 16.19% 和 25.24% ;戊聚糖的减少率分别为 31.85% 和 40.61%。随着这些物质的减少 ,纯生黄酒的稳定性可以得到一定的提高或改善。

(3)通过光散射实验发现 ,生黄酒的平均粒度为 887.5 nm ,而纯生黄酒 A 和纯生黄酒 B 中平均粒度大小均有明显的减小 ,分别减小为 19.5 nm 和 2.7 nm ,从而可以说明超滤技术后 ,酒液的粒度维持在较低的水平 ,不向大颗粒转变 ,提高了纯生黄酒的稳定性。

(4)研究表明 ,超滤法纯生黄酒的非生物稳定性总体上了有了一定的提高或改善。

#### 参 考 文 献

- 1 钱俊青. 吸附法提高黄酒稳定性的研究[J]. 中国酿造, 1997(1):25~29
- 2 夏其龙. 黄酒浑浊的处理[J]. 酿酒科技, 2001(1):74~75
- 3 孙国昌. 谈黄酒沉淀与质量[J]. 酿酒科技, 2002(2):68~68
- 4 费雪忠. 黄酒稳定性刍议[J]. 酿酒, 1996(2):7~9
- 5 周春倩. 黄酒稳定期的探讨[J]. 酿酒科技, 1996(1):49~50

- 6 赵光鳌,金岭南. 黄酒生产分析检验[M]. 北京:轻工业出版社,1987
- 7 管敦仪. 啤酒工业手册(中册)[M]. 北京:轻工业出版社,1985
- 8 蔡定域. 酿酒工业分析手册[M]. 北京:轻工业出版社,1988
- 9 朱建航. 微滤技术提高黄酒胶体稳定性的探讨[M]. 工业微生物,1999(3):33~35
- 10 沈 钟,王果庭. 胶体与表面化学[M]. 北京:化学工业出版社,1991
- 11 Dduglas S G. A rapid method for the determination of pentosans in wheat flour[J]. Food Chemistry, 1981(7):139~145
- 12 朱一松,赵光鳌,帅桂兰等. 纯生黄酒的酿造——超滤去酶技术的应用[J]. 食品与发酵工业,2003(11):46~50
- 13 谢广发. 黄酒沉淀的防止措施[J]. 酿酒科技,2000(6):72~73
- 14 Gruppen H, Marseille J P. Mild Isolation of Water - Insoluble Cell Wall Material from Wheat Flour: Composition of Fractions Obtained with Emphasis on Non - Starch Polysaccharide[J]. Journal of Cereal Science, 1989(9):247~260
- 15 姚允斌,裘祖楠. 胶体与表面化学导论[M]. 天津:南开大学出版社,1988

## Study on the Non - biological Stability of Draft Rice Wine by Ultrafiltration

Zhu Yisong Zhao Guangao Shuai Guilan Wei Yunping

1( School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi, 214036, China )

2( China Shaoxing Yellow Wine Group Corp. Shaoxing, 312000, China )

**ABSTRACT** In this article , raw rice wine was filtrated through ultrafiltration membranes that Molecular Weight Cut Off( MWCO ) were 30 000 u and 10 000 u. The contents of enzymes , protein , polyphenol , iron ion and pentosans , which related with the non - biological instability , were quantitatively determined. By scattering experiment , the change of the mean size of particles of rice wine was investigated. The results indicated that the ultrafiltration membranes could remove well amylase , saccharogenic amylase and proteinase. It is found that ultrafiltration technique not only reduces the content of protein , polyphenol , iron ion and pentosans , but also reduces the mean size of samples particles. This finding results in the enhancement and improvement of the non - biological stability of draft rice wine.

**Key words** draft rice wine , ultrafiltration , non-biological stability

### 2004 年全球葡萄酒产量 287 亿 L

国际葡萄及葡萄酒组织日前公布的数字显示 ,2004 年全球葡萄酒产量达 287 亿 L ,比 2003 年同比增长 9.5%。葡萄酒产量历史记录目前尚属于 1992 年 ,该年全球葡萄酒产量达 296 亿 L。根据国际葡萄及葡萄酒组织的统计 ,2004 年葡萄及葡萄酒产量达 7.2 亿 L ,约占全球总产量的 2.7%。