

超声波对黄酒后发酵过程的影响

冯东阳^{1,2}, 毛健^{*1,2,3}, 姬中伟^{1,2,3}, 孟祥勇^{1,2,3}

(1. 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 3. 国家黄酒工程技术研究中心, 浙江 绍兴 312000)

摘要: 为了探明超声处理对黄酒后发酵过程的影响, 研究了不同发酵阶段超声处理对黄酒发酵醪液常规理化指标和风味物质的影响。结果发现, 每天超声处理 5 min 和 10 min 可以在一定程度上加速乙醇的产生, 但并没有显著提高发酵终点的酒精度(乙醇体积分数)。每天超声处理 10 min、发酵 17 d 的黄酒氨基酸组成接近正常发酵 20 d 时黄酒的氨基酸组成。超声处理使发酵 20 d 时黄酒中有机酸的组成发生了变化。该结果初步显示超声处理在黄酒酿造过程中应用的可能性。

关键词: 黄酒; 超声波; 常规理化指标; 氨基酸; 有机酸

中图分类号: TS 262.4 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2016)06—0604—07

Effects of Ultrasound on the Late Fermentation Process of Chinese Rice Wine

FENG Dongyang^{1,2}, MAO Jian^{*1,2,3}, JI Zhongwei^{1,2,3}, MENG Xiangyong^{1,2,3}

(1. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. National Engineering Research Center of Chinese Rice Wine, Shaoxing 312000, China)

Abstract: In order to figure out the effect of ultrasound treatment on the late fermentation process, the change of routine physics and chemistry index and flavor compounds in different stage were investigated. The results showed that the ultrasonic treatment for 5 min and 10 min per day accelerated the production of alcohol, whereas it can not significantly increase the alcohol content at the end of fermentation. The amino acids composition of rice wine treated by Ultrasound for 10 min per day on 17 days were similar to the rice wine with a normal fermentation for 20 days. Ultrasound treatment changed the composition of organic acids of rice wine on 20 days. These results preliminary indicated that applying ultrasound to the fermentation process of Chinese rice wine is feasible.

Keywords: Chinese rice wine, ultrasound, routine physics and chemistry index, amino acid, organic acid

黄酒的发酵需要一个低温长时间的后发酵过程。后发酵阶段除了酵母进一步作用产生乙醇外,

更主要是为了生成黄酒的特有风味物质, 并使黄酒的风味更谐调^[1-2]。为保证成品酒的品质, 以传统工

收稿日期: 2014-12-09

基金项目: 国家 863 计划项目(2013AA102203-06)。

* 通信作者: 毛健(1970—), 男, 安徽宿州人, 工学博士, 教授, 主要从事食品生物技术研究。E-mail: biomao@263.net

艺为基础发展起来的机械化工工艺避免不了长时间的低温发酵过程^[3]。这大大限制了黄酒厂的设备利用率。研究表明,低强度超声波依靠机械振动和稳态空化效应可以加速细胞生长及代谢,提高酶促反应速度,加速理化反应^[4-7]。因此,通过研究超声波对黄酒后发酵过程中常规理化指标、氨基酸含量和有机酸含量的影响,期望为人工缩短黄酒后发酵时间提供一些参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酵母菌(绍兴81号),作者所在实验室保藏菌种;米曲霉苏16,作者所在实验室保藏菌种;生麦曲,会稽山绍兴酒股份有限公司提供;熟麦曲,作者所在实验室按绍兴制曲工艺培养;特纯糯米,购自安徽无为县永盛米业有限公司。

1.2 仪器与设备

超声波发生器(频率20 kHz,功率0~1 000 W可调),无锡上佳生物科技有限公司定制;Waterse2695型高效液相色谱系统(配有2489型紫外检测器及Empower2型色谱工作站),美国Waters公司制造;5810R台式高速冷冻离心机,德国Eppendorf公司制造。

1.3 方法

1.3.1 超声波对酵母细胞存活力影响试验 将发酵7 d的黄酒后发酵醪液分装到25 mm×200 mm的试管中,放入超声波发生器的槽体进行超声处理。其作用参数为:功率500 W,频率20 kHz,处理时间0、5、10、15、20、25、30 min。处理完的发酵醪液立即用于测酵母活细胞率。

1.3.2 超声波对糖化酶活力影响试验 将发酵7 d的黄酒后发酵醪液分装到25 mm×200 mm的试管,放入超声波发生器的槽体中进行超声处理。其作用参数为:功率500 W,频率20 kHz,处理时间0、5、10、15、20、25 min。处理完的发酵醪液经滤纸过滤后作为酶液,测定相应的酶活力。

1.3.3 黄酒后发酵过程超声波处理方法 参照绍兴机械化生产黄酒工艺配方,在5 L的烧杯中进行黄酒发酵,烧杯用4层纱布封口。在发酵的第7天(后发酵第2天)开始每天进行超声处理,至发酵20 d结束。超声参数:参照前面超声波对酵母存活率及糖化酶活力的影响,选取合适的超声功率,设置5个不同的超声时间进行超声处理,研究超声处理时间

对黄酒后发酵过程的影响。每个条件做两个平行。

1.3.4 酵母细胞数及活细胞率的测定方法 参照文献[8-9]报导的测定方法及计算公式。

1.3.5 糖化酶活力测定方法

1)糖化酶活力测定:参照《黄酒生产技术》,采用菲林试剂法进行测定^[10]。

2)糖化酶活力定义:1 mL醪液在30℃下糖化1 h所产生的葡萄糖质量(mg)。

1.3.6 发酵液常规理化指标检测方法 总糖、酒精度、总酸、氨基态氮、pH、非糖固形物,按《GB/T 13662—2008 黄酒》^[11]进行测定。

1.3.7 发酵液中有机酸的测定方法

1)发酵醪液的预处理:样品的处理方法参照文献[12]并略有改动。黄酒发酵醪液经4 000 r/min离心10 min后取上清液1 mL,加入硫酸锌溶液(300 g/L)及亚铁氰化钾溶液各0.8 mL。经8 000 r/min离心5 min后取上清液,用0.22 μm水系滤膜过滤后置于进样瓶中待测。

2)色谱条件:色谱柱 ODSHYPERASIL(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相 0.02 mol/L KH₂PO₄水溶液(pH 2.70);体积流量 0.7 mL/min,柱温 30℃,进样量 10 μL,运行时间 30 min,紫外检测波长 210 nm。

3)定量:根据标准曲线回归方程求得样品中有机酸浓度。

1.3.8 发酵液中游离氨基酸的测定方法

1)发酵液预处理:用预先配置好的体积分数5%的三氯乙酸溶液,将黄酒发酵醪液稀释10倍,静置30 min,然后用双层滤纸过滤,将滤液在10 000 r/min离心10 min后过0.45 μm水系滤膜,吸取10 μL滤液注入清洁的6 mm×50 mm衍生管底部,准备衍生。

2)发酵醪液中游离氨基酸的衍生:使用Waters公司的AccQ·Fluor衍生剂,衍生方法参照试剂盒说明书。

3)色谱条件:色谱柱 Athena C18-WP(4.6 mm×250 mm,5 μm);柱温 37℃;流动相的配置分为A、B、C液。A液,Waters自带的AccQ·Tag A溶液,按1:10体积比将浓液用超纯水稀释,放到超声波清洗器中超声脱气,备用;B液,纯乙腈,用0.22 μm有机滤膜过滤,超声处理后使用;C液,超纯水,过0.22 μm水系滤膜,超声处理后使用。体积流量 1.0 mL/min,紫外检测器检测波长 248 nm;梯度洗脱,洗脱表如表1所示。

表 1 梯度洗脱表

Table 1 Gradient elution

时间/min	体积流量/ (mL/min)	体积分数/%		
		A	B	C
0	1.00	92.0	8.0	0.0
0.50	1.00	90.3	9.7	0.0
17.50	1.00	86.3	13.7	0.0
19.00	1.00	80.0	20.0	0.0
29.50	1.00	70.0	30.0	0.0
30.00	1.00	0.0	60.0	40.0
33.00	1.00	92.0	8.0	0.0
42.00	1.00	92	8	0.0

4) 定量方法: 采用外标法。

2 结果与分析

2.1 超声波对酵母活细胞数的影响

由图 1 可看出, 发酵 7 d 的发酵醪液经 20 kHz、500 W、0~30 min 的超声处理后, 活细胞率整体呈现下降趋势。总细胞数和活细胞数整体上也呈下降趋势, 但下降得并不显著。在超声处理 6 min 范围内, 随着处理时间的增加, 总细胞数和活细胞数有上升的趋势, 这可能是由于超声波促进了醪液酵母细胞的分散, 以及使附着在醪液中米饭等固体颗粒上的酵母细胞分离下来, 增加了显微镜可计到的细胞数。

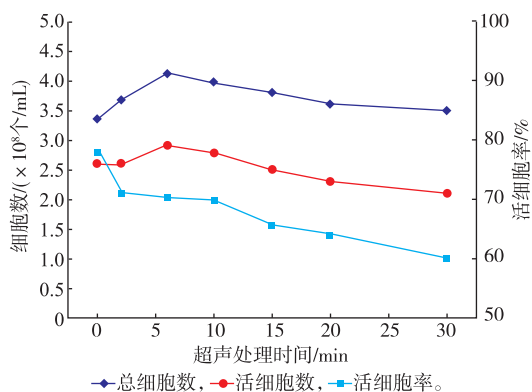
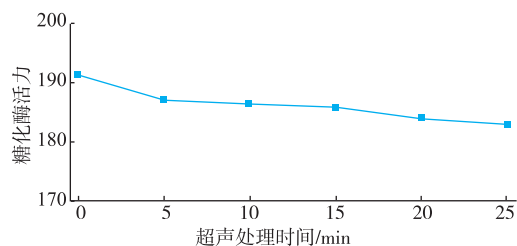


图 1 黄酒 7 d 发酵醪液经超声处理后的酵母细胞数变化
Fig. 1 Change of yeast cells quantity in Chinese rice wine treated by different ultrasonic wave power on 7 days

2.2 超声波对糖化酶活力的影响

见图 2, 在实验条件下, 超声处理 0~25 min, 随着超声处理时间的增加, 醪液的糖化酶活力整体上呈现下降的趋势, 但下降的幅度并不大。与对照组相比, 超声处理 25 min 醪液的糖化酶活力仅下降了

7 mg/(mL·h)。综合超声对酵母活细胞数及糖化酶活力的影响, 初步将每天的超声处理时间设置为 0~20 min。



— 糖化酶活力, 以 1 mL 醪液在 30 °C 下糖化 1 h 产生的葡萄糖质量(mg)计。

图 2 超声波对发酵 7 d 醪液糖化酶活力的影响

Fig. 2 Effect of ultrasonic wave power on activity of glucoamylase of Chinese rice wine on 7 days

2.3 超声波对黄酒后发酵过程常规理化指标的影响

2.3.1 不同超声波处理条件下黄酒后发酵过程中酒精度的变化 选择每天超声波处理时间为 0~20 min, 从发酵第 7 天开始, 使用 1.2 所介绍的超声波设备每天进行超声处理, 至发酵 20 d 结束。由图 3 可知, 在 20 kHz、500 W 超声波条件下每天超声处理 5 min 和 10 min, 可以在一定程度上加速乙醇的产生, 但并没有显著提高发酵终点的酒精度(乙醇体积分数)。每天超声处理 15 min 和 20 min 在一定程度上降低了乙醇的生成速度, 这可能是由于超声波使酵母活细胞数减少所致。

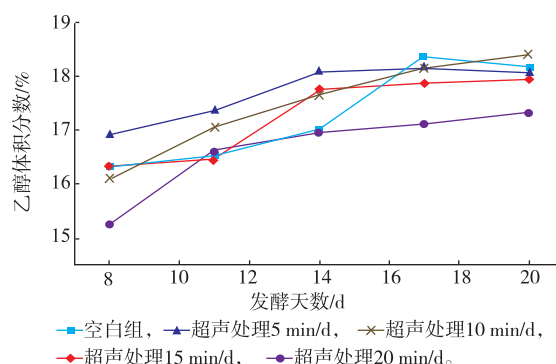


图 3 不同超声处理条件黄酒后发酵过程乙醇体积分数变化曲线
Fig. 3 Alcohol curves of Chinese rice wine in late fermentation stage kept under different ultrasonic wave power

2.3.2 不同超声处理条件下黄酒常规理化指标方差分析 从表 2 和表 3 可以看出, 发酵第 8 天和第 11 天时, 每天超声处理 5 min 的样品酒精度与对照组相比都显著增加($P < 0.05$)。这可能是因为刚进入后发酵阶段, 黄酒醪液中的二氧化碳浓度还比较

高,超声波脱气作用降低了发酵醪液中的二氧化碳浓度,促进了酵母细胞的代谢^[13]。

与对照组相比,每天超声处理 10 min 的黄酒样品的氨基酸态氮含量在发酵 8 d 时显著增加 ($P<0.05$)。随着每天超声处理时间的增加,发酵 8 d 和

11 d 时的还原糖含量呈现先增加后下降的趋势。发酵 11 d 时随着超声处理时间的增加总酸的含量呈现下降趋势,这可能是因为超声处理降低了乳酸菌等产酸菌的产酸。发酵 8 d 和发酵 11 d 时,对照组与超声处理组相比非糖固形物及 pH 的变化并不显著。

表 2 发酵 8 d 常规理化指标

Table 2 Physicochemical index of Chinese rice wine on 8 days

超声处理 时间/(min/d)	乙醇体积分数/%	总酸/(g/L)	氨基酸态氮 质量浓度/(g/L)	还原糖质量 浓度/(g/L)	非糖固形物质量 浓度/(g/L)	pH
0	16.3±0.0 ^b	5.03±0.10 ^{ab}	0.87±0.00 ^b	9.39±0.09 ^c	44.6±1.1 ^a	4.61±0.03 ^a
5	17.0±0.1 ^a	4.99±0.01 ^{ab}	0.89±0.02 ^b	9.70±0.035 ^{bc}	46.3±2.4 ^a	4.64±0.00 ^a
10	16.2±0.1 ^b	5.15±0.00 ^a	0.96±0.0 ^a	11.50±0.14 ^a	45.8±0.3 ^a	4.64±0.07 ^a
15	16.4±0.1 ^b	4.86±0.11 ^b	0.90±0.04 ^{ab}	10.00±0.28 ^b	46.5±0.5 ^a	4.65±0.01 ^a
20	15.4±0.2 ^c	4.57±0.10 ^c	0.92±0.04 ^{ab}	9.18±0.04 ^c	47.1±0.6 ^a	4.64±0.10 ^a

注:同列数据的不同上标字母表示在 $P<0.05$ 水平上进行 ANOVA 检验,差异显著。

表 3 发酵 11 d 常规理化指标

Table 3 Physicochemical index of Chinese rice wine on 11 days

超声处理 时间/(min/d)	乙醇体积分数/%	总酸/(g/L)	氨基酸态氮 质量浓度/(g/L)	还原糖质量 浓度/(g/L)	非糖固形物质量 浓度/(g/L)	pH
0	16.5±0.2 ^b	5.01±0.07 ^a	1.21±0.07 ^{ab}	8.25±0.21 ^a	46.6±1.1 ^a	4.59±0.06 ^a
5	17.4±0.4 ^a	4.87±0.00 ^a	1.37±0.07 ^a	8.20±0.14 ^a	44.7±2.20 ^a	4.64±0.01 ^a
10	17.1± 0.1 ^{ab}	4.74±0.19 ^{ab}	1.25±0.08 ^{ab}	8.50±0.21 ^a	43.7±0.6 ^a	4.65±0.06 ^a
15	16.5± 0.1 ^b	4.69±0.13 ^{ab}	1.32±0.06 ^{ab}	8.28±0.18 ^a	44.00±0.1 ^a	4.64±0.01 ^a
20	16.6± 0.4 ^b	4.50±0.12 ^b	1.20±0.01 ^b	5.45±0.16 ^b	46.4±0.9 ^a	4.66±0.08 ^a

注:同列数据的不同上标字母表示在 $P<0.05$ 水平上进行 ANOVA 检验,差异显著。

从表 4 可见,发酵第 14 天时,每天超声处理 5 min 的样品酒精度仍比其它组高。随着超声处理

时间的增加,此阶段非糖固形物呈先下降后上升的趋势。对照组与超声组之间 pH 仍无显著差异。

表 4 发酵 14 d 常规理化指标

Table 4 Physicochemical index of Chinese rice wine on 14 days

超声处理 时间/(min/d)	乙醇体积分数/%	总酸/(g/L)	氨基酸态氮 质量浓度/(g/L)	还原糖质量 浓度/(g/L)	非糖固形物质量 浓度/(g/L)	pH
0	17.0±0.1 ^b	5.17±0.10 ^a	1.41±0.01 ^c	7.03±0.07 ^a	45.8±1.8 ^a	4.64±0.06 ^a
5	18.1±0.2 ^a	5.01±0.07 ^a	1.48±0.02 ^{ab}	6.87±0.12 ^a	40.8±2.0 ^b	4.63±0.01 ^a
10	17.7±0.2 ^a	4.69±0.13 ^b	1.40±0.01 ^c	7.14±0.05 ^a	40.2±1.0 ^b	4.65±0.07 ^a
15	17.8±0.1 ^a	5.00±0.07 ^a	1.43±0.01 ^{bc}	7.10±0.19 ^a	43.4±0.5 ^{ab}	4.67±0.03 ^a
20	17.0±0.1 ^b	4.7±0.01 ^b	1.50±0.04 ^a	5.35±0.02 ^b	45.5±0.1 ^a	4.69±0.05 ^a

注:同列数据的不同上标字母表示在 $P<0.05$ 水平上进行 ANOVA 检验,差异显著。

由表 5 和表 6 可见,发酵至第 20 天时,每天超声处理 20 min 的样品组酒精度最低。每天超声处理 0~15 min 样品组的酒精度差值在体积分数 0.5% 内。随着超声处理时间的增加,总酸在发酵 17 d 和发酵 20 d 时整体上都呈现下降趋势。

2.4 超声处理对黄酒后发酵过程中游离氨基酸含量的影响

由表 7 可见,在实验条件下随着超声处理时间的增加,发酵 20 d 的黄酒中所测得的 17 种氨基酸的总含量呈增加趋势。这可能是因为超声波促进了

后期酵母等微生物的自溶及醪液中蛋白质的分解。这与郭翔^[14]研究古越龙山“五年陈”和金枫“五年陈”黄酒的结果一致。超声处理后涩味氨基酸所占比率都高于对照组,这可能对黄酒口感有负面影响。

表 5 发酵 17 d 常规理化指标

Table 5 Physicochemical index of Chinese rice wine on 17 days

超声处理 时间/(min/d)	乙醇体积分数/%	总酸/(g/L)	氨基酸态氮 质量浓度/(g/L)	还原糖质量 浓度/(g/L)	非糖固形物质量 浓度/(g/L)	pH
0	18.4±0.1 ^a	5.23±0.11 ^a	1.61±0.03 ^a	6.85±0.14 ^b	44.1±0.7 ^{bc}	4.68±0.06 ^a
5	18.2±0.1 ^a	5.41±0.01 ^a	1.65±0.06 ^a	6.29±0.05 ^c	42.9±1.3 ^a	4.63±0.01 ^a
10	18.2±0.4 ^a	4.61±0.16 ^c	1.64±0.01 ^a	6.35±0.04 ^c	38.9±0.5 ^c	4.68±0.08 ^a
15	17.9±0.1 ^a	4.89±0.10 ^b	1.67±0.01 ^a	7.32±0.09 ^a	40.7±0.4 ^{abc}	4.69±0.05 ^a
20	17.1±0.1 ^b	4.58±0.11 ^c	1.67±0.03 ^a	3.81±0.11 ^d	42.1±1.4 ^{ab}	4.69±0.02 ^a

注: 同列数据的不同上标字母表示在 $P<0.05$ 水平上进行 ANOVA 检验, 差异显著。

表 6 发酵 20 d 常规理化指标

Table 6 Physicochemical index of Chinese rice wine on 20 days

超声处理 时间/(min/d)	乙醇体积分数/%	总酸/(g/L)	氨基酸态氮 质量浓度/(g/L)	还原糖质量 浓度/(g/L)	非糖固形物质量 浓度/(g/L)	pH
0	18.2±0.1 ^{ab}	5.55±0.00 ^a	1.67±0.04 ^a	5.43±0.25 ^d	37.8±0.2 ^{bc}	4.68±0.00 ^a
5	18.1±0.1 ^{ab}	5.49±0.10 ^a	1.79±0.04 ^a	5.99±0.01 ^c	35.9±0.5 ^d	4.70±0.04 ^a
10	18.4±0.1 ^a	5.11±0.06 ^b	1.71±0.01 ^{ab}	7.55±0.14 ^b	36.2±0.7 ^{cd}	4.73±0.06 ^a
15	18.0±0.1 ^b	4.67±0.04 ^d	1.81±0.03 ^{bc}	8.45±0.21 ^a	38.0±0.4 ^b	4.71±0.01 ^a
20	17.3±0.3 ^c	4.87±0.00 ^c	1.86±0.04 ^c	3.63±0.18 ^c	41.8±1.1 ^a	4.72±0.01 ^a

注: 同列数据的不同上标字母表示在 $P<0.05$ 水平上进行 ANOVA 检验, 差异显著。

表 7 发酵 20 d 黄酒中氨基酸含量

Table 7 Content of free amino acids of Chinese rice wine on 20 days

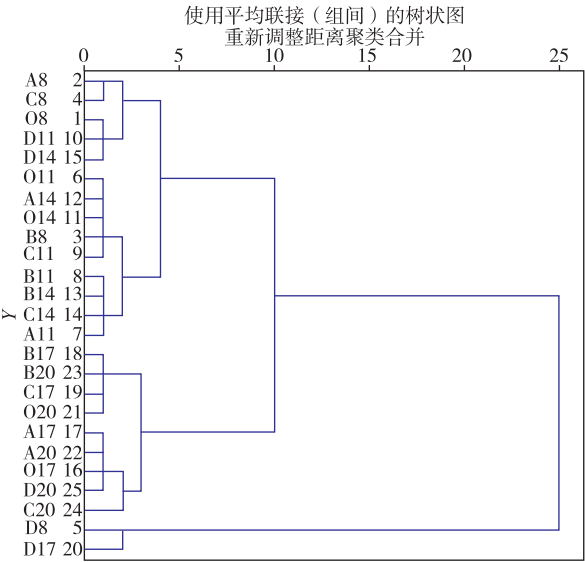
类别	名称	质量浓度/(mg/L)				
		超声处理 0 min/d	超声处理 5 min/d	超声处理 10 min/d	超声处理 15 min/d	超声处理 20 min/d
甜味	甘氨酸	470.11±7.74 ^d	495.69±8.5 ^c	527.93±7.12 ^b	533.67±2.18 ^{ab}	545.87±3.75 ^a
	丝氨酸	431.51±4.14 ^d	426.24±7.41 ^d	470.39±2.62 ^c	489.73±3.60 ^b	531.05±3.64 ^a
	苏氨酸	240.46±3.18 ^c	234.73±0.84 ^c	269.66±8.02 ^b	261.38±6.79 ^b	295.39±6.57 ^a
	丙氨酸	1035.98±6.66 ^d	1145.56±6.93 ^c	1190.98±6.72 ^b	1155.29±5.04 ^c	1222.17±3.86 ^a
	半胱氨酸	67.52±4.07 ^c	89.60±1.48 ^b	61.62±2.19 ^c	102.13±1.06 ^a	99.31±4.48 ^a
	蛋氨酸	195.21±6.72 ^c	211.50±2.52 ^b	172.86±3.56 ^d	239.03±0.63 ^a	229.79±1.99 ^a
	脯氨酸	761.23±7.77 ^d	736.64±6.21 ^c	817.80±3.53 ^a	799.51±1.37 ^b	783.79±6.56 ^c
	Σ	3202.02±26.84 ^c	3339.95±30.94 ^d	3511.25±6.09 ^c	3580.75±16.31 ^b	3707.37±23.36 ^a
	占总量比率/%	35.95±0.01 ^b	35.97±0.08 ^b	35.72±0.02 ^c	36.06±0.05 ^b	36.25±0.07 ^a
苦味	组氨酸	185.43±1.97 ^b	197.08±4.35 ^a	201.22±6.62 ^a	205.77±1.83 ^a	201.42±1.56 ^a
	精氨酸	1089.57±9.35 ^d	1209.16±8.02 ^c	1327.21±9.48 ^a	1313.32±3.36 ^{ab}	1294.52±7.30 ^c
	缬氨酸	479.96±6.67 ^d	514.08±5.00 ^c	515.44±4.58 ^c	528.96±2.90 ^b	571.09±4.06 ^a
	苯丙氨酸	463.84±8.83 ^b	461.60±7.33 ^b	503.39±2.41 ^a	503.77±5.90 ^a	514.81±6.13 ^a
	亮氨酸	664.90±7.72 ^c	652.41±3.69 ^c	717.02±4.61 ^b	728.62±2.75 ^b	749.19±5.17 ^a
	赖氨酸	521.67±8.44 ^b	501.77±1.39 ^c	532.57±5.37 ^{ab}	539.38±1.37 ^a	541.48±8.18 ^a
	异亮氨酸	309.91±0.81 ^c	305.78±3.91 ^c	328.18±1.75 ^b	337.75±3.51 ^b	356.46±8.18 ^a
	Σ	3715.27±25.29 ^d	3841.88±33.68 ^c	4125.02±12.41 ^b	4157.57±2.70 ^b	4228.95±40.57 ^a
	占总量比率/%	41.71±0.06 ^b	41.37±0.07 ^c	41.96±0.08 ^a	41.87±0.10 ^{ab}	41.35±0.06 ^c

续表 7

类别	名称	质量浓度/(mg/L)				
		超声处理 0 min/d	超声处理 5 min/d	超声处理 10 min/d	超声处理 15 min/d	超声处理 20 min/d
鲜味	天冬氨酸	525.14±4.06 ^d	526.54±2.85 ^d	562.07±2.7 ^b	552.11±5.10 ^c	598.29±2.06 ^a
	谷氨酸	996.43±9.98 ^d	1032.83±1.24 ^a	1099.73±4.89 ^a	1076.94±5.31 ^b	1116.67±8.30 ^a
	Σ	1521.56±14.04 ^a	1559.37±1.62 ^d	1661.79±2.19 ^b	1629.05±10.41 ^c	1714.96±10.35 ^a
	占总量比率/%	17.08±0.02 ^a	16.79±0.10 ^b	16.90±0.04 ^b	16.40±0.05 ^c	16.77±0.04 ^b
涩味	酪氨酸	467.80±7.17 ^c	544.83±1.20 ^b	533.02±4.97 ^b	563.13±0.83 ^a	576.06±8.92 ^a
	Σ	467.80±7.17 ^a	544.83±1.20 ^b	533.02±4.97 ^b	563.13±0.83 ^a	576.06±8.92 ^a
	占总量比率/%	5.25±0.04 ^d	5.87±0.05 ^a	5.42±0.06 ^c	5.67±0.01 ^b	5.63±0.04 ^b
总含量		8 906.65±73.33 ^d	9 286.03±65.04 ^c	9 831.08±11.34 ^b	9 930.50±30.25 ^b	10 227.34±83.20 ^a

注:同行数据的不同上标字母表示在 $P<0.05$ 水平上进行 ANOVA 检验,差异显著。

为了进一步比较不同超声处理条件和发酵时间下黄酒中氨基酸的差异特征,采用 SPSS20.0 统计分析软件,以测定的 17 种氨基酸含量的差异信息为基础进行了聚类分析。图 4 显示了不同超声处理条件及发酵时间黄酒样品的聚类分析结果。



注:1)大写字母 O,A,B,C,D 分别代表超声处理 0 min/d, 5 min/d,10 min/d,15 min/d,20 min/d; 2)大写字母后面阿拉伯数字 8,11,14,17,20 分别代表相应样品的发酵天数。

图 4 不同超声处理条件及发酵时间下黄酒中游离氨基酸的聚类分析

Fig. 4 Clustering Analysis of content of free amino acids kept under different ultrasonic wave power and fermentation time

从聚类分析结果可以看出,黄酒并没有按发酵时间或超声处理条件聚类。这可能是因为超声处理使不同发酵阶段黄酒氨基酸的组成及含量发生了

变化。从结果还可看出,B17(超声处理 10 min,发酵 17 d)和 C17(超声处理 15 min,发酵 17 d)黄酒样品与 O20 黄酒样品(正常发酵 20 d)聚为一类,这在一定程度上说明可以通过后发酵过程引入超声处理的方式使黄酒提前达到某种特有的氨基酸组成。

2.5 超声处理对黄酒中有机酸含量的影响

所谓“无酸不成酒”,黄酒中的酸度主要取决于有机酸,其含量、种类与黄酒最终的品质优劣、产品类型有很大关系^[15-16]。由图 5 可知,发酵 20 d 时黄酒中的有机酸主要为乳酸、乙酸、琥珀酸、柠檬酸、酒石酸,比率占有机酸总量的 90 % 以上,这与吴春所研究的绍兴成品黄酒中有机酸的结果一致^[17]。超声组和对照组中乳酸和乙酸的含量都是最多的,两者之和比率都超过 60 %。每天超声处理 5 min 和 10 min 的超声组的乳酸和乙酸的含量都比对照组高。与对照组相比,发酵 20 d 时超声组中琥珀酸和柠檬酸的含量有所降低,考虑到其可能对成品黄酒带来负面影响,从超声处理条件、发酵时间、发酵温度等方面进行综合考虑很有必要。

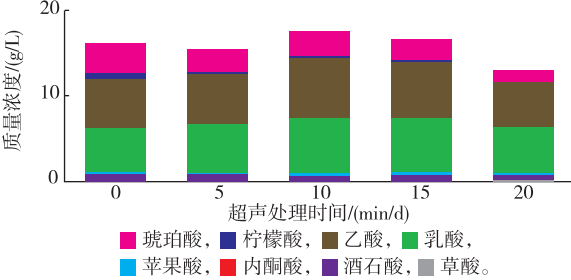


图 5 不同超声条件下发酵 20 d 的黄酒中有机酸含量
Fig. 5 Contents of organic acids in Chinese rice wine samples kept under different ultrasonic wave power on 20 days

3 结 语

研究表明,适宜的超声处理条件可以在一定程度上加速后发酵阶段前期的酒精产生,但并没有显著提高发酵终点的酒精度,过度的超声处理反而会使最终的黄酒酒精度下降。超声处理对总酸、还原糖、非糖固形物的影响在不同发酵时间表现不同。超声处理对黄酒 pH 没有显著影响,可增加发酵终点时黄酒中氨基酸的总含量,改变不同发酵时期

黄酒的氨基酸组成,在适当的超声条件下可使黄酒提前达到正常发酵终点时氨基酸的组成。与对照组相比,经超声处理后发酵 20 d 的黄酒中琥珀酸和柠檬酸的含量有所降低,总的有机酸含量呈波动性变化。

本研究仅从超声处理对黄酒的常规理化指标、氨基酸和有机酸生成的影响进行了分析,但其对挥发性风味物质的影响及对黄酒综合指标的影响等方面还有较多工作要做,处理条件也需进一步优化。

参考文献:

- [1] 李红蕾,冯涛,荣志伟. 黄酒酿制过程中风味物质变化规律的研究[J]. 食品工业,2011(12):69-72.
LI Honglei, FENG Tao, RONG Zhiwei. Studies on changing regularity of flavor compounds during brewing rice wine [J]. **Food industry**, 2011(12):69-72. (in Chinese)
- [2] WANG P, MAO J, MENG X, et al. Changes in flavour characteristics and bacterial diversity during the traditional fermentation of Chinese rice wines from Shaoxing region[J]. **Food Control**, 2014, 44:58-63.
- [3] 周家骥. 黄酒生产工艺[M]. 北京:中国轻工业出版社,1996.
- [4] Leaes E X, Lima D E I, Miklasevicius L, et al. Effect of ultrasound-assisted irradiation on the activities of alpha-amylase and amyloglucosidase[J]. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 2013, 2(1):21-25.
- [5] García Martín J F, Guillemet L, Feng C, et al. Cell viability and proteins release during ultrasound-assisted yeast lysis of light lees in model wine[J]. **Food Chemistry**, 2013, 141(2):934-939.
- [6] 冯若,李化茂. 声化学及其应用[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,1992.
- [7] Schl Fer O, Onyeché T, Bormann H, et al. Ultrasound stimulation of micro-organisms for enhanced biodegradation [J]. **Ultrasonics**, 2002, 40(1-8):25-29.
- [8] 徐凤,李崎,顾国贤,等. 酵母死亡率测定方法的比较[J]. 啤酒科技,2001(5):1-4.
XU Feng, LI Qi, GU Guoxian, et al. Comparison of determination method of yeast mortality [J]. **Beer Science and Technology**, 2001(5):1-4. (in Chinese)
- [9] 毛青钟,虞菲. 机械化生产加饭酒发酵过程生物化学成分变化研究[J]. 酿酒,2009(6):63-67.
MAO Qingzhong, YU Fei. Mechanized production of Shao Xing rice-adding wine fermentation process increases biochemistry composition change research[J]. **Liquor Making**, 2009(6):63-67. (in Chinese)
- [10] 傅金泉. 黄酒生产技术[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [11] GB/T 13662-2008 黄酒[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [12] 王伟岗,曹伟,朱新生. 食醋中有机酸含量的测定及差异性分析[J]. 食品与发酵科技,2013(2):81-84.
WANG Weigang, CAO Wei, ZHU Xinsheng. Determination of organic acids in vinegar and difference analysis [J]. **Food and Fermentation Technology**, 2013(2):81-84. (in Chinese)
- [13] 松浦一雄. 超声波辐照工艺在酒类发酵中的应用[J]. 中国食品工业,1998(10):40-42.
SONGPU Yixiong. Effects of ultrasonic wave irradiation in ethanol production[J]. **China Food**, 1998(10):40-42. (in Chinese)
- [14] 郭翔. 黄酒风味物质分析与控制的研究[D]. 无锡:江南大学 生物工程学院,2004.
- [15] CAO Yu, XIE Guangfa, WU Chun, et al. A study on characteristic flavor compounds in traditional Chinese rice wine-guyue Longshan rice wine[J]. **Journal of the Institute of Brewing**, 2010, 116(2):182-189.
- [16] 莫瑞深. 低频超声对黄酒催陈效果的研究[J]. 广西轻工业,2007,23(9):16-18.
MO Ruishen. Effect of low-frequency ultrasound on the aging of Chinese rice wine [J]. **Guangxi Journal of Light Industry**, 2007, 23(9):16-18. (in Chinese)
- [17] 吴春. 古越龙山黄酒的特征风味物质及其成因的初步研究[D]. 无锡:江南大学 生物工程学院,2009.