

广东河源客家黄酒氨基酸分析

高云超^{1*}, 宫晓波¹, 杨春英¹, 池建伟¹, 杨春丽¹, 林耀盛¹, 姚锡缜¹, 李振伟², 肖丽梅²

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广州 510610; 2. 广东河源绿纯食品有限公司, 东源 517536)

摘 要: 目的 分析广东客家黄酒关键工艺对氨基酸的组成、含量以及呈味特征的影响。**方法** 采用日立氨基酸自动分析仪, 分析测定氨基酸含量, 计算氨基酸分值、味道强度值(dose-over-threshold, DoT)等指标确定氨基酸对黄酒的影响。**结果** 客家黄酒中总氨基酸含量在 2658.99~5420.63 mg/L 之间, 其中黑豆黄酒各氨基酸含量及总量最高, 商品板栗黄酒氨基酸含量最低, 客家黄酒中最主要的氨基酸是谷氨酸和天冬氨酸, 两者合计占氨基酸总量的 20%以上, 而胱氨酸、蛋氨酸和苯丙氨酸含量最低, 是限制性氨基酸。计算不同酒样氨基酸的味道强度只有谷氨酸(Glu)的 DoT 值大于 1, 说明黄酒中决定口味的氨基酸主要是谷氨酸。本研究中黄酒的味道指数(taste index, TI)排序为: 商品黑豆黄酒 > 绍兴古越龙山花雕酒 > 商品板栗糯米酒 > 贮藏 1 年的板栗糯米原酒 > 炙酒后的原酒 > 商品普通糯米酒 > 炙酒前原酒 > 1。**结论** 基于对客家黄酒中 17 种水解氨基酸的分析, 表明不同的原料、发酵过程、炙酒方法、贮存时间等因素对氨基酸组成和含量影响较大, 本研究中使用剂量比域因子(DoT)方法和味道指数(TI)方法能够较好地反映出黄酒中不同氨基酸对味道的作用和贡献。

关键词: 客家黄酒; 水解氨基酸; 味道强度; 味道指数; 氨基酸评价

Analysis of amino acids for Hakka rice wines from Guangdong Heyuan

GAO Yun-Chao^{1*}, GONG Xiao-Bo¹, YANG Chun-Ying¹, CHI Jian-Wei¹, YANG Chun-Li¹,
LIN Yao-Sheng¹, YAO Xi-Zhen¹, LI Zhen-Wei², XIAO Li-Mei²

(1. Sericulture and Agri-food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China; 2. Guangdong Heyuan Luchun Food Limited Corporation, Dongyuan 517536, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the influence of key techniques on the composition, content and taste characteristics of amino acids in Hakka rice wine in Guangdong province. **Methods** The automatic amino acid analyzer was used to detect the amino acids content, and the effects of amino acids on Hakka rice wine were determined by calculating amino acid score, dose over threshold factor (DoT), taste index and other indicators. **Results** The total amino acid contents of Hakka rice wines were from 2658.99 mg/L to 5420.63 mg/L, the content of total amino acid and amino acids for black soybean wine were highest among all rice wines, the chestnut rice wine was the lowest in content, the main amino acids in Hakka rice wine were glutamic acid and aspartic acid, both of which account for more than 20% of the total amino acids in every rice wine, while cystine, methionine and phenylalanine are the lowest in amino acids for test, which were limiting amino acids. The taste dose-over-threshold factor (DoT) of amino acids in different wine samples was calculated, only the DoT value of Glu was greater than 1,

基金项目: 广东省科技计划项目(2017A020225015)

Fund: Supported by Guangdong Provincial Science and Technology Project(2017A020225015)

*通讯作者: 高云超, 博士, 研究员, 主要研究方向为微生物学与食品生物技术。E-mail: yunchaogao@126.com

*Corresponding author: GAO Yun-Chao, Ph.D, Professor, Sericulture and Agro-food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, No.133 Dongguanhuang Yiheng Road, Tianhe District, Guangzhou 510640, China. E-mail: yunchaogao@126.com

which indicated that the glutamic acid was the most important one in the rice wines, and it determines the taste for rice wines. The order of the taste index(TI) was, black soybean rice wine>Shaoxing Guyue Longshan Huadiao rice wine>chestnut rice wine>chestnut rice wine stored for one year>raw rice wine after heat>traditional Hakka rice wine>raw rice wine before heat>1. **Conclusion** Based on the analysis of 17 hydrolyzed amino acids in Hakka rice wine, the different raw materials, fermentation process, brewing method, storage times and other factors have great influence on amino acid composition and content. The taste dose over threshold factor (*DoT*) and taste index (*TI*) methods are appropriately used to determine the effect and contribution of different amino acids to the taste in Hakka rice wine.

KEY WORDS: Hakka rice wine; hydrolyzed amino acid; taste characteristics; taste index; evaluation of amino acids

1 引言

黄酒是世界上最古老的酿造酒类之一,是我国的特产,被誉为“中华国粹”^[1]。黄酒有很多种类型,比如按照含糖量可以分为干型、半干、半甜、甜型黄酒等;也有按照原料、产品风格、工艺类型和糖化发酵剂类型区分的^[1]。但是在我国的华南地区和东南地区客家民系聚集地区,客家黄酒是当地民众最为普遍饮用的本土特产^[2],客家黄酒也称客家娘酒、客家月子酒、客家老酒、客家糯米酒、客家喜酒等称呼。客家娘酒是当地的普遍称呼,这是客家人用糯米酿造的一种米酒,属黄酒类。据报道含有丰富的维生素、葡萄糖、氨基酸等营养成分,在客家人的人生礼仪中充当着重要饮品,而且在很多家庭和人生的重要仪式中是必备的酒类,比如添丁升学、婚庆寿诞、晋级乔迁、逢年过节等,客家黄酒成为客家地区普遍的习俗和客家饮食文化的重要内容^[2,3]。客家娘酒之所以称之为娘酒,一方面是因为客家娘酒主要由客家妇女酿造,另一方面是客家妇女在生完小孩“坐月子”期间,传统上需要用客家娘酒制作“娘酒鸡”等,作为主要滋补食品之一来调养身体。客家黄酒是我国黄酒的一个种类,主要集中在广东梅州、河源、惠州、韶关以及江西赣州和福建龙岩等地。特别在广东的粤东地区,客家黄酒是当地的标志性食品和特产之一,客家黄酒在粤东地区在酿造上有稍微差异,但以梅州和河源地区最具代表性,客家黄酒的酿造过程大致为“选料-浸泡-蒸米-冷却-拌曲-发酵-接酿-压榨-炙酒-陈酿-勾兑”几个阶段,其中的“接酿”阶段就是在发酵前期接入适量的米酒或者清水,以增加米酒中的糖度,增加风味^[4]。由此可见客家黄酒属于甜型黄酒。另外大部分地区的客家黄酒酿制过程中仍然保持独特的古法酿制习惯,比如手工操作、球形自制酒饼、炙酒过程使用田泥涂抹酒瓮,使用蕨类槽箕(铁芒箕)和稻壳闷烧酒瓮,缓慢过夜加热酒瓮的炙酒工艺等^[3]。

板栗(*Castanea mollissima*)在植物学上属于壳斗科栗属植物,在我国南北方均有种植和食用加工,然而在广东省河源地区种植面积最大,并且在河源当地的很多客家食品中都有板栗的成分。板栗营养丰富,含有丰富的淀粉和

糖类,但是因为板栗不耐贮藏,导致每年板栗贮藏过程中有大量的损失,因此在很多板栗产区,都有添加板栗作为不同的食材进行食品加工和日常食用的习俗。有关使用板栗作为酿酒原料,王琳等^[5]以板栗和糯米为原料提出了板栗酒的发酵工艺条件,并对香气进行了分析。王蔚新等^[6]利用酶制剂对板栗淀粉进行水解。葛伟楠等^[7]和邹静等^[8]对酿造板栗糖化曲种进行了选择并对发酵工艺进行了优化等研究工作。

目前国内外对于黄酒和客家黄酒中营养成分特别是氨基酸的研究已经开展了很多工作,钱敏等^[9]研究不同原料对客家黄酒发酵过程的影响,结果表明糯米、粳米、籼米都适合酿制客家黄酒。曹甜等^[10]报道了客家黄酒多糖具有一定的抗氧化活性,白卫东等^[11]2013研究了陈酿和发酵过程中多酚类物质的变化。田翔等^[12]建立了以 6-氨基喹啉-N-羟基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯(6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate, AQC)衍生化处理的分析方法,分析了 17 种氨基酸。龚金炎等^[13]2017 提出传统手工黄酒发酵过程中常见游离氨基酸和 γ -氨基丁酸在前发酵和后发酵前期增加缓慢,在后发酵后期增加迅速。黄雪松等^[14]2011 对黄酒中沉淀蛋白质进行了研究,张辉等^[15]研究了黄酒酿造过程中氨基酸的变化。其中一些作者研究了水解和游离氨基酸的分析方法^[16]。

广东河源是客家人的主要集聚地区,河源客家黄酒是客家娘酒的最具代表性的产地之一,这些客家黄酒均采用古法酿制,但是不同的地区在工艺上还是略有差异的,比如河源地区不使用红曲而其他地区多使用红曲,河源地区多使用摊饭法而其它地区多使用淋饭法,河源地区多使用半蒸半煮的稻壳闷烧酒瓮的炙酒方法而其他地区多采用封坛闷烧炙酒方法,等等,但是总之客家黄酒在工艺和质量上区分不大,属于中国黄酒的种类之一。虽然黄酒营养丰富,但黄酒是酿造后酒液和发酵液的混合物,因而营养成分复杂,特别是在味道方面呈现出多种味道混合的情况,鉴于客家黄酒在营养方面的研究报道较少,有关黄酒氨基酸含量和营养评价等问题报道较少,本研究是在广东河源绿纯食品有限公司采样,测定

分析了不同发酵原料及炙酒前后和不同贮藏时期的客家黄酒的氨基酸成分和含量, 以便说明客家黄酒的氨基酸价值, 及其营养关系以及营养评价。

2 材料与方法

2.1 材料、仪器、试剂

本研究中使用 7 种黄酒: 编号 1、2、3 号是原酒, 4、5、6 号是商品酒, 7 号为对照; 这些酒样分别是: 1#, 炙酒前板栗娘酒原酒; 2#, 炙酒后板栗娘酒原酒; 3#, 炙酒后存储一年的板栗娘酒原酒; 4#, “绿纯牌”商品板栗娘酒; 5#, “绿纯牌”客家喜酒(商品糯米娘酒); 6#, “绿纯牌”黑豆商品娘酒; 7#, 对照的古越龙山花雕酒(商品酒购买)。

湘仪 TG-16WS 高速冷冻离心机(湖南赛特湘仪离心机公司); BF-2000 氮气吹干仪(北京八方世纪科技有限公司); L-8900 全自动氨基酸分析仪(日本日立公司)^[17]; 移液枪(100~1000 μ L, 芬兰 Thermo Scientific 公司); Vortex Mixers-SA8 漩涡振荡混匀器(英国 Stuart 公司); N-1300E 旋转蒸发仪(东京理化株式会社); 赛多利斯 CPA-225D 电子天平(精度为 0.01 mg, 德国 Sartorius 公司); 纯水机 MILLI-Q integral-10(德国 MERK Millipore 公司)。

5-氨基水杨酸(分析纯, 天津福晨化学试剂公司); 盐酸(分析纯, 广州化学试剂公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 水解氨基酸分析样本的前处理和分析

黄酒样品中水解氨基酸的测定, 参照 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》^[18]并修改为: 取 2 mL 酒样, 加 10 mL 6 mol/L 的盐酸溶液, 再加入苯酚 3~4 滴, 置于冰箱中冷冻 10 min, 而后在氮吹仪上充氮气 3~5 min 后封口并拧紧盖子, 把水解管置于 110 $^{\circ}$ C 的电热恒温箱中水解 22 h, 冷却到室温后过滤, 定容到 25 mL, 吸取 1 mL 于试管中用旋转蒸发仪在 40~50 $^{\circ}$ C 下干燥, 加水 1 mL 再干燥, 用 1.5 mL 2 mol/L 的 pH 2.2 柠檬酸钠缓冲溶液溶解, 0.22 μ m 微孔滤膜过滤后存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中, 等待进样分析。水解氨基酸分析^[17]的色谱柱为 4.6 mm $\times$ 60 mm(填料为 2622), 缓冲溶液 PH-1、PH-2、PH-3、PH-4、PH-RG、茚三酮及其缓冲液购买于日立和光纯药工业株式会社, 泵 1 流速为 0.40 mL/min 和泵 2 流速为 0.35 mL/min, 使用软件 EZChrom elite 系统运行操作, 柱温 57 $^{\circ}$ C, 反应柱温度 135 $^{\circ}$ C, 检测波长: 第一通道 570 nm, 第二通道 440 nm, 进样量 20 μ L, 每个样品分析时间约 53 min。由于标准样本 20 μ L 含有 2 nmol 氨基酸, 因此实际浓度需要根据摩尔质量数折算并除以 20 得到测定溶液的浓度, 计算时酒液的实际氨基酸浓度为测定样本的 12.5 $\times$ 1.5=18.75 倍。再按照 GB 5009.5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》^[19]测定蛋白质, 并计算单位

重量蛋白质的氨基酸含量。

2.2.2 氨基酸类型的分析

(1) 总氨基酸、必需氨基酸和非必需氨基酸

依据传统氨基酸分析方法^[20-23], 所测定的氨基酸分为总氨基酸(total amino acids, TAA)、必需氨基酸(essential amino acids, EAA)、和非必需氨基酸(non-essential amino acids, NEAA)。必需氨基酸(Thr、Val、Met、Ile、Leu、Phe、Lys、Trp)合计计算含量, 并使用必需氨基酸占氨基酸总量的质量分数表示, 用 TAA 表示氨基酸总量^[23], EAA 表示必需氨基酸含量^[24], NEAA 表示人体非必需氨基酸(Asp、Ser、Glu、Gly、Ala、Tyr、His、Arg、Pro、Cys 含量)。

$EAA/NEAA$ =人体必需氨基酸含量/人体非必需氨基酸含量

EAA/TAA =人体必需氨基酸含量/氨基酸总量

(2) 呈味氨基酸

呈味氨基酸(delicious amino acids, DAA)^[25], 呈味氨基酸按照 Zhao 等方法^[20]和 Rotzoll 等方法^[21]分为①鲜味氨基酸(Umami, Glu, Asp)、②甜味氨基酸(Sweet, Ala, Gly, Pro, Ser, Thr)、③苦味氨基酸(Bitter, His, Lys, Val, Try, Tyr, Phe, Ile, Leu, Arg)和④盐味氨基酸(Salty, Cys, Met)。根据孙凌等^[22]方法确定优味氨基酸为甜味氨基酸和鲜味氨基酸, 劣味氨基酸为苦味氨基酸和盐味氨基酸, 并分别计算。

剂量比域因子(也称味道强度, dose-over-threshold, DoT)^[21]为各呈味物质的含量与其阈值的比, 当 $DoT>1$ 时, 认为该物质对呈味有贡献, 而 $DoT<1$ 时, 认为该物质对呈味没有贡献。由此可以确定主要呈味的氨基酸。根据 Zhao 等^[20]方法和 Rotzoll 等^[21]方法提出的阈值并折算, 同时进行 DoT 分析。

本研究提出味道指数(taste index, TI)指的是优味氨基酸的 DoT 之和与劣味氨基酸的 DoT 之和的比值, 如果比值大于 1, 说明本食品具有鲜味、甜味和厚重味道, 如果味道指数 TI 数值小于 1, 说明食品味道低劣, 口感不良。

优味氨基酸=甜味氨基酸+鲜味氨基酸

劣味氨基酸=苦味氨基酸+咸味氨基酸

剂量比域因子(味道强度) DoT =某种呈味氨基酸浓度/某种氨基酸阈值

味道指数 $TI=\sum \text{优味 } DoT/\sum \text{劣味 } DoT$

2.2.3 氨基酸的评价方法

根据 FAO/WHO1973 年提出的建议, 氨基酸评价使用标准模式和全鸡蛋蛋白质的氨基酸模式, 评分按照以下方法计算^[26-32]。

氨基酸评分(amino acid score, AAS, %)=被测样本的氨基酸含量(AA)/WHO(FAO)评分模式中同种氨基酸含量(AA)

化学评分(chemistry score, CS, %)=被测样本的氨基酸含量 AA/全鸡蛋蛋白质中同种氨基酸(AA)的含量;

必需氨基酸指数(EAAI)=($\prod(A_i/B_i) \times 100$)^{1/n}

式中,氨基酸含量为 mg/gpro; *n* 为必需氨基酸的种类; *A_i* 为样品中必需氨基酸的含量; *B_i* 为 FAO/WHO 标准中必需氨基酸的含量, *i*=1~7^[33]。

RC=AAS/AAS 均值

式中,如食品样品各 EAA 含量与 WHO/FAO 推荐模式的 EAA 含量一致,则其 EAA 的比值系数值(ratio coefficient, RC)等于 1,如果 RC<1 或 RC>1,则表示该种必需氨基酸偏离了 WHO/FAO 推荐的氨基酸模式。也就是说,如果 RC<1 表明该种 EAA 含量相对过低,如果 R>1,表明该种 EAA 含量相对过高。其中 RC 值最小者为此蛋白氨基酸的第一限制性氨基酸。

氨基酸比值系数分(score of ratio coefficient, SRC)=100-100CV

式中 CV 为 RC 变异系数,即 CV=RC 的标准差/平均值。

当供试样品的 EAA 组成比例与 WHO/FAO 推荐的 EAA 模式完全一致,表明样品中氨基酸完全符合人体需求,营养价值较大, SRC=100, CV=0。换句话说,如果氨基酸比值系数的 CV 越小, SRC 越接近 100,则该食品的营养价值就越高。反之,如果氨基酸比值系数的 CV 越大, SRC 相对的越小,那么该食品的营养价值就越低。

2.2.4 数据处理

实验设计为供试样品 3 次重复,分析结果使用 Excel 2010 进行数据处理,同时使用分析软件 SPSS 16.0 进行统

计分析和差异性比较,采用 Fisher 法进行多重比较,显著性水平设定为 P<0.05 和 P<0.01。

3 结果与分析

3.1 客家黄酒中氨基酸的色谱分析

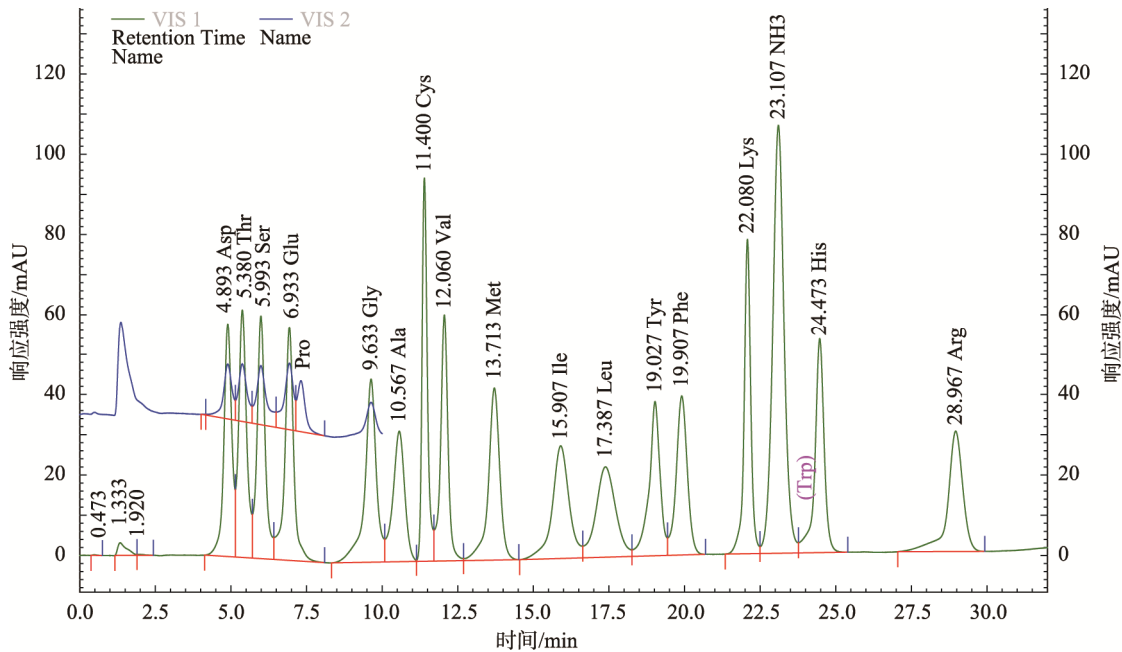
采用氨基酸自动分析仪测定了客家黄酒中的水解氨基酸,其中脯氨酸在波长 440 nm 下测定,其余氨基酸在波长 570 nm 条件下测定,水解氨基酸的标准氨基酸分离效果见图 1,可见 17 种氨基酸分离效果良好(图 1)。

从图 1 可以看出 17 种氨基酸和 NH₃ 在 30 min 内得到十分理想的分离效果,从图 1 的图谱中可见,没有杂质干扰,氨基酸的峰形良好,且各种氨基酸的分离效果较好,说明这种色谱条件能够准确地分析和检测各种水解氨基酸及其含量。

3.2 黄酒中氨基酸的分析

对客家黄酒样品进行酸水解后,对 17 种氨基酸进行了测定分析,这 17 种氨基酸为天门冬氨酸(Asp)、苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、胱氨酸(Cys)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、酪氨酸(Tyr)、苯丙氨酸(Phe)、赖氨酸(Lys)、组氨酸(His)、精氨酸(Arg)、脯氨酸(Pro),并计算出氨基酸总量、必需氨基酸总量。

表 1 是不同酒样氨基酸含量表以及氨基酸总量、必需氨基酸总量的计算表格,表 2 是各种氨基酸占总氨基酸的



注: 1、天门冬氨酸(Asp); 2、苏氨酸(Thr); 3、丝氨酸(Ser); 4、谷氨酸(Glu); 5、甘氨酸(Gly); 6、丙氨酸(Ala); 7、胱氨酸(Cys); 8、缬氨酸(Val); 9、蛋氨酸(Met); 10、异亮氨酸(Ile); 11、亮氨酸(Leu); 12、酪氨酸(Tyr); 13、苯丙氨酸(Phe); 14、赖氨酸(Lys); 15、组氨酸(His); 16、精氨酸(Arg); 17、脯氨酸(Pro)。

图 1 客家黄酒分析中所使用的 17 种水解氨基酸的标准图谱

Fig.1 Standard spectra of 17 kinds of amino acids in Hakka rice wine analysis

表 1 不同酒样中各氨基酸含量及其总量表(mg/L)
Table 1 Content and total amount of amino acids in different wine samples

氨基酸	酒样编号						
	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#
Asp	478.72±10.02abAB	415.00±1.89bB	362.04±74.95bBC	238.88±36.01cC	421.00±39.15bAB	534.03±15.83aAB	313.63±147.97bBC
Thr	225.98±35.65aA	150.34±0.72bcB	130.03±30.24bcB	120.33±26.61cB	159.09±12.52bcB	210.98±36.61aAB	109.60±28.24cB
Ser	235.38±3.06abAB	198.78±1.93bAB	174.03±43.08bB	119.20±6.39cB	212.37±18.55bAB	289.01±89.10aA	151.06±24.12bB
Glu	751.30±0.57bB	709.41±31.20bB	638.74±145.54bB	478.59±15.95bB	734.59±61.33bB	1327.54±516.95aA	653.16±48.82bB
Gly	309.85±64.29aA	206.07±1.253bAB	180.06±41.92bB	134.26±2.07bB	215.90±19.36bAB	306.18±104.80aA	140.64±5.19bB
Ala	305.25±74.94bAB	279.68±6.56bAB	254.75±46.80bB	202.60±2.87bB	286.29±21.08bAB	426.92±144.27aA	208.69±32.66bB
Cys	26.57±2.20abAB	16.96±1.45bB	14.54±2.02bB	18.78±4.80bAB	19.33±2.33bAB	39.82±23.47aA	20.62±4.85bAB
Val	275.23±5.28abAB	226.02±5.96bAB	198.08±42.86bcC	143.66±6.77cC	241.03±16.59abAB	289.22±70.75aA	157.86±32.05cC
Met	36.96±12.87aA	19.66±9.92bA	30.06±3.19abA	16.45±11.90bA	19.90±13.77abA	21.47±11.12abA	16.98±7.14bA
Ile	335.09±7.89abA	269.87±8.75bAB	237.71±56.00cAB	172.33±5.02cB	276.23±16.74abAB	360.03±106.41aA	153.28±75.90cB
Leu	155.33±6.36aA	115.97±3.28bAB	105.05±21.08bcB	80.04±4.79cB	125.68±7.89abAB	155.16±41.98aA	83.28±15.23bcB
Tyr	285.37±0.96abAB	242.11±6.19bAB	208.25±46.50bcB	155.57± 0.07cB	248.87±18.46bAB	316.07±74.40aA	174.21±37.06cB
Phe	64.44±49.27aA	30.97±5.92aA	31.96±4.25aA	26.29± 0.37bA	35.86±3.19aA	32.50±17.48aA	49.27±4.38aA
Lys	249.60±1.63aA	157.06±0.49bcBC	131.89±26.23cC	102.36±2.29cC	164.66±14.53bcBC	190.44±50.54bB	99.06±17.62cC
His	143.24±2.32aA	113.34±1.19bAB	85.58±18.38bcB	66.95±6.80cB	112.68±8.69bAB	131.91±34.26abA	70.74±18.56cB
Arg	432.23±6.81aA	252.92±4.24bcB	200.51±55.79bcB	146.39±5.18cB	272.54±27.81bAB	300.44±165.51bAB	130.31±18.49cB
Pro	269.11±10.13abA	245.14±1.20bA	212.74±45.16bA	436.32± 259.58abA	253.95±1080bA	488.89±232.02aA	252.79±22.88bA
TAA	4579.65±89.98abAB	3649.31±85.48bB	3196.02±519.16bB	2658.99±222.14bB	3799.98±275.18bAB	5420.63±1678.28aA	2785.18±439.96bB
EAA	1342.63±118.95aA	969.89±35.08bB	864.79±183.83bcB	661.46±57.74cB	1022.46±85.07bAB	1259.71±234.89abAB	669.33±180.56cB
(EAA/TAA)/%	29.32	26.58	27.06	24.88	26.91	23.240	24.03%

注: 1#, 炙酒前板栗黄酒原酒; 2#, 炙酒后板栗黄酒原酒; 3#, 炙酒前板栗黄酒原酒贮藏 1 年; 4#, 商品板栗黄酒(糯米黄酒); 5#, 商品客家喜酒(糯米黄酒); 6#, 商品黑豆黄酒; 7#, 对照为古越龙山花雕酒。小写字母不同表示差异显著($P<0.05$), 大写字母不同表示差异极显著($P<0.01$)。

比值表,从表 1 和表 2 中可见,黄酒中总氨基酸含量在 2658.99~5420.63 mg/L 之间,最大含量的是“黑豆娘酒”,最小含量的是商品板栗黄酒。在各个氨基酸组分中,胱氨酸和蛋氨酸含量最低,如样本 3(贮藏 1 年的原酒)的胱氨酸含量为 14.535 mg/L,样本 4(商品板栗黄酒)的蛋氨酸含量为 16.454 mg/L;在各组分氨基酸中,谷氨酸含量最高,如样本 6(黑豆黄酒)为 1327.54 mg/L;其他大部分氨基酸占总氨基酸的比重在 1%~10%左右。从表 1 中看出,黄酒中最主要的氨基酸是天冬氨酸和谷氨酸,两者合计占氨基酸总量的 20%以上,其他中等含量的氨基酸有脯氨酸、苏氨酸、甘氨酸、丝氨酸、丙氨酸、缬氨酸、酪氨酸、异亮氨酸、赖氨酸和精氨酸。从表 1 可见,不同类型的黄酒中氨基酸的总量分别是 4579.653、3649.307、3196.019、2658.990、3799.978、5420.632 和 2785.183 mg/L,其中以第 4 号样本(商品板栗黄酒)含量最少,而第 6 号(黑豆黄酒)氨基酸含量最多。

表 3 是炙酒、贮藏与不同酿造原料氨基酸变化的比较表,表 3 的第一栏和第二栏是原酒在炙酒前后的氨基酸变化情况即相互比较的比值,从表 3 可见,从发酵过程来看,

1、2 号样本是炙酒前和炙酒后的取样,可见炙酒过程对于氨基酸的影响很大,炙酒后氨基酸总量降低 20.3%,而对比各个氨基酸来看,炙酒后每一种氨基酸含量都出现较大的降低,其中降低幅度最大的是蛋氨酸和苯丙氨酸,这 2 种氨基酸在炙酒过程中减少含量 50%左右,而苏氨酸、甘氨酸、胱氨酸、赖氨酸、精氨酸在炙酒过程中降低 1/3 以上,亮氨酸、异亮氨酸、组氨酸在炙酒过程中降低 20%以上,丙氨酸和谷氨酸降低不明显,从整个氨基酸来看降低 20%左右,其中必需氨基酸受到影响很大,必需氨基酸总量降低 1/4 以上(表 3),可见黄酒制作过程中传统的炙酒方式是导致氨基酸大量遗失的重要过程,这个传统工艺是否需要改善,值得探讨。

表 3 的第 2 栏是原酒、炙酒后以及炙酒后贮藏 1 年后的相互比较情况,从表 3 中可以看到,贮藏 1 年后总氨基酸含量为炙酒后的 87.6%,降低 12.4%,必需氨基酸含量为炙酒后的 89.1%,降低 10.9%,各组分氨基酸中对贮藏最敏感的是组氨酸和精氨酸,贮藏一年后含量降低 20%以上,除蛋氨酸和苯丙氨酸以外,其余氨基酸均降低 10%以上。

表 2 不同酒样氨基酸含量占氨基酸总量的比值表
Table 2 Ratio table of amino acid content of different liquor samples to total amino acids

氨基酸	酒样编号							比值范围
	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	
Asp	0.107	0.114	0.113	0.090	0.111	0.099	0.113	0.09~0.114
Thr	0.050	0.041	0.041	0.045	0.042	0.039	0.039	0.039~0.05
Ser	0.052	0.054	0.054	0.045	0.056	0.053	0.054	0.045~0.056
Glu	0.167	0.194	0.200	0.180	0.193	0.245	0.235	0.167~0.245
Gly	0.069	0.056	0.056	0.050	0.057	0.056	0.050	0.050~0.069
Ala	0.068	0.077	0.080	0.076	0.075	0.079	0.075	0.068~0.08
Cys	0.006	0.005	0.005	0.007	0.005	0.007	0.007	0.005~0.007
Val	0.061	0.062	0.062	0.054	0.063	0.053	0.057	0.053~0.062
Met	0.008	0.005	0.009	0.006	0.005	0.004	0.006	0.004~0.009
Ile	0.075	0.074	0.074	0.065	0.073	0.066	0.055	0.055~0.075
Leu	0.035	0.032	0.033	0.030	0.033	0.029	0.030	0.029~0.035
Tyr	0.064	0.066	0.065	0.059	0.065	0.058	0.063	0.058~0.066
Phe	0.014	0.008	0.010	0.010	0.009	0.006	0.018	0.006~0.018
Lys	0.056	0.043	0.041	0.038	0.043	0.035	0.036	0.036~0.056
His	0.032	0.031	0.027	0.025	0.030	0.024	0.025	0.024~0.032
Arg	0.096	0.069	0.063	0.055	0.072	0.055	0.047	0.047~0.096
Pro	0.060	0.067	0.067	0.164	0.067	0.090	0.091	0.060~0.164

注: 酒样编号同表 1 注释。

表 3 的第 3 栏是各个酒样与普通糯米客家黄酒的比较, 4 号、5 号、6 号酒样分别为板栗商品黄酒、糯米商品黄酒和黑豆商品黄酒, 以传统客家糯米黄酒氨基酸为基础比较, 分别比较其他几种原料商品黄酒的氨基酸组成和含量后发现, 可见板栗黄酒总氨基酸仅为糯米黄酒总氨基酸的 49%, 必需氨基酸仅为 64.7%, 除脯氨酸和苯丙氨酸含量为糯米黄酒的 80%以外, 其余氨基酸仅仅达到 50%左右, 差距较大, 并且从表 1 的差异显著性上来看, 4 号样和 5 号样大部分氨基酸在 $P < 0.05$ 水平上差异明显。黑豆黄酒与糯米黄酒比较可见, 黑豆黄酒总氨基酸含量提高 42.6%, 必需氨基酸提高 23.2%, 其中胱氨酸提高 1 倍, 脯氨酸提高 92.5%, 谷氨酸提高 80.7%, 甘氨酸和丙氨酸提高 40%以上, 苏氨酸、丝氨酸、异亮氨酸提高 30%以上, 天冬氨酸、亮氨酸、酪氨酸提高 20%以上, 其余氨基酸均有不同程度的提高, 并且从表 1 的差异显著性上来看, 6 号样和 5 号样大部分氨基酸在 $P < 0.05$ 水平上差异明显。

3.3 黄酒中氨基酸的味道性能分析

客家黄酒同黄酒一样具有多种味道, 从口感上来讲,

具有黄酒的独特风味, 这个味道与其他发酵酒类典型地不同, 氨基酸在决定黄酒味道的物质中起到关键作用。目前对于黄酒中味道的描述以及氨基酸的作用, 不同作者描述不同。孙凌等^[22]提出的把黄酒氨基酸分为两类, 一类叫做优味氨基酸, 包括强甘味(Gly, Ala, His, Arg)、甘味(Thr, Ser, Phe, Lys)和鲜味氨基酸(Glu), 另一类叫做劣味氨基酸, 包括苦味(Met, Tyr, Cys, Trp)、涩味(Leu)和酸味(Asp)氨基酸。本研究根据 Zhao 等^[20]和 Rotzoll 等^[21]以及 Otagiri 等^[23]的观点和阈值表把氨基酸分为鲜味氨基酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸和咸味氨基酸, 前两者统计为优味氨基酸, 后两者统计为劣味氨基酸(表 4)。从表 4 可见, 鲜味氨基酸包含 2 种氨基酸, 它们分别是天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu); 甜味氨基酸包含 5 种氨基酸, 它们分别是丝氨酸(Ser)、脯氨酸(Pro)、甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)和苏氨酸(Thr); 苦味氨基酸包含有缬氨酸(Val)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、酪氨酸(Tyr)、苯丙氨酸(Phe)、赖氨酸(Lys)、组氨酸(His)、精氨酸(Arg), 共 8 种氨基酸, 由于色氨酸易分解性, 不计在内; 咸味氨基酸包含 2 种, 即胱氨酸(Cys)和蛋氨酸(Met)。

表 3 炙酒前后与不同酿造原料氨基酸的变化比较表
Table 3 Comparisons with amino acids changes before and after heat and different brewing raw materials

氨基酸种类	炙酒、贮藏与不同原料的氨基酸比较									
	原酒炙酒后与炙酒前比较		原酒、炙酒后 1 年与炙酒后比较		酒样与糯米酿酒的氨基酸比值					
	炙酒后比例 /%	炙酒后降低 /%	炙酒前 (1#/2#)	贮藏 1 年 (3#/2#)	1#/5#	2#/5#	3#/5#	4#/5#	6#/5#	7#/5#
Asp	86.689	13.311	1.15355	0.87240	1.13709	0.98574	0.85996	0.56740	1.26848	0.74495
Thr	66.525	33.475	1.50320	0.86493	1.42047	0.94496	0.81733	0.57035	1.32615	0.68892
Ser	84.450	15.55	1.18414	0.87550	1.10835	0.93599	0.81947	0.41242	1.36090	0.71131
Glu	94.424	5.576	1.05905	0.90037	1.02275	0.96573	0.86952	0.36051	1.80719	0.88916
Gly	66.505	33.495	1.50364	0.87378	1.43515	0.95445	0.83397	0.43849	1.41815	0.65141
Ala	91.624	8.376	1.09142	0.91086	1.06621	0.97690	0.88982	0.47457	1.49120	0.72895
Cys	63.840	36.160	1.56640	0.85676	1.37461	0.87756	0.75186	0.47156	2.06006	1.06642
Val	82.120	17.880	1.21774	0.87640	1.14192	0.93774	0.82183	0.49670	1.19996	0.65493
Met	53.200	46.800	1.87972	1.52894	1.85705	0.98794	1.51050	0.76637	1.07879	0.85298
Ile	80.542	19.458	1.24159	0.88078	1.21309	0.97704	0.86056	0.47864	1.30340	0.55492
Leu	74.660	25.34	1.33942	0.90589	1.23588	0.92270	0.83587	0.51589	1.23454	0.66265
Tyr	84.843	15.157	1.17865	0.86012	1.14666	0.97286	0.83678	0.49219	1.27002	0.70000
Phe	48.057	51.942	2.08086	1.03216	1.79684	0.86351	0.89128	0.80889	0.90620	1.37395
Lys	62.924	37.076	1.58921	0.83976	1.51577	0.95379	0.80096	0.53751	1.15652	0.60158
His	79.125	20.875	1.26383	0.75506	1.27124	1.00587	0.75949	0.50751	1.17073	0.62782
Arg	58.515	41.485	1.70895	0.79277	1.58591	0.92800	0.73569	0.48724	1.10238	0.47813
Pro	91.093	8.907	1.09778	0.86784	1.05971	0.96532	0.83774	0.89247	1.92515	0.99544
TAA	79.685	20.315	1.25494	0.87579	1.20518	0.96035	0.84106	0.49053	1.42649	0.73295
EAA	72.238	27.762	1.38430	0.89164	1.31314	0.94859	0.84580	0.64694	1.23204	0.65463

注: 1. 酒样编号同表 1 注释; 2. 表中 2#/1#、1#/2#、3#/2#、1/5-----7#/5#代表标号酒样的比较。

表 4 不同酒样氨基酸浓度与阈值的比较(DoT)
Table 4 Comparison of amino acid concentration and threshold in different wine samples(DoT)

氨基酸		不同编号酒样氨基酸的味道强度(DOT 值)和味道指数 TI 值									
味道分组	种类	阈值/(mmol/L)	阈值/(mg/L)	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	平均值
鲜味	Asp 天冬氨酸	4.0	532.4	0.899	0.779	0.680	0.449	0.791	1.003	0.589	0.741
	Glu 谷氨酸	3.0	441.3	1.702	1.608	1.447	1.085	1.665	3.008	1.480	1.714
	Ser 丝氨酸	30.0	3153.0	0.075	0.063	0.055	0.038	0.067	0.092	0.048	0.063
	Pro 脯氨酸	26.0	2992.6	0.090	0.082	0.071	0.146	0.085	0.163	0.084	0.103
	Gly 甘氨酸	25.0 ^[a]	1877.5	0.165	0.110	0.096	0.072	0.115	0.163	0.075	0.114
甜味	Ala 丙氨酸	8.0	712.8	0.428	0.392	0.357	0.284	0.402	0.599	0.293	0.394
	Thr 苏氨酸	40.0	4764.0	0.047	0.032	0.027	0.025	0.033	0.044	0.023	0.033
	Val 缬氨酸	21.0	2459.1	0.112	0.092	0.081	0.058	0.098	0.118	0.064	0.089
	Ile 异亮氨酸	11.0	1443.2	0.232	0.187	0.165	0.119	0.191	0.249	0.106	0.178
	Leu 亮氨酸	12.0	1574.4	0.099	0.074	0.067	0.051	0.080	0.099	0.053	0.075
Bitter 苦味	Tyr 酪氨酸	5.0	906.0	0.315	0.267	0.230	0.172	0.275	0.349	0.192	0.257
	Phe 苯丙氨酸	4.5 ^[a]	743.4	0.087	0.042	0.043	0.035	0.048	0.044	0.066	0.052
	Lys 赖氨酸	3.4 ^[a]	497.1	0.502	0.316	0.265	0.206	0.331	0.383	0.199	0.315
	His 组氨酸	1.2 ^[a]	186.2	0.769	0.609	0.460	0.360	0.605	0.708	0.380	0.556
	Arg 精氨酸	25.0 ^[b]	4355.0	0.099	0.058	0.046	0.034	0.063	0.069	0.030	0.057
Salty 咸味	Cys 胱氨酸	2.0	480.6	0.055	0.035	0.030	0.039	0.040	0.083	0.043	0.046
	Met 蛋氨酸	5.0	746.0	0.050	0.026	0.040	0.022	0.027	0.029	0.023	0.031
	优味(鲜味+甜味), DoT 之和	-	-	3.406	3.066	2.733	2.099	3.158	5.072	2.592	3.162
	劣味(苦味+咸味), DoT 之和	-	-	2.320	1.706	1.427	1.096	1.758	2.131	1.156	1.650
	味道指数(TI 值)= $\sum$ 优味 DoT/ $\sum$ 劣味 DoT			1.468	1.797	1.915	1.917	1.796	2.379	2.242	1.916

注: 1. [a]数据源自 Zhao 等^[20], 2. [b]数据源自 Otagiri 等^[21], 3. 其他数据源自 Rotzoll 等^[21], 4. 酒样编号同表 1 注释。

不同酒样的氨基酸浓度与相应阈值的比值为味道强度即剂量比域因子 DoT, 如果浓度大于阈值说明该物质是该食品的主要呈味物质, 对风味有显著的影响。从表 4 可见, 在黄酒中对味道影响较大的氨基酸的 DOT 值得排序为 $\text{Glu} > \text{Asp} > \text{His} > \text{Ala} > \text{Lys} > \text{Tyr} > \text{Ile} > \text{Gly}$, 这 8 种对味道影响较大的氨基酸中属于优劣氨基酸各有 4 种, 其中只有谷氨酸(Glu)的 DoT 值大于 1, 说明黄酒中决定口味的氨基酸主要是谷氨酸, 谷氨酸是鲜味氨基酸, 所以在饮用黄酒时能够品尝到谷氨酸的鲜味。

本研究提出味道指数(TI)被定义为优味氨基酸的味道强度之和与劣味氨基酸的味道强度之和, 这是一个总的风味的评价指标, 如果味道指数大于 1, 说明口感和风味良好, 如果味道指数小于 1, 说明劣味氨基酸占优势, 口感和味道不佳。本研究中黄酒的 TI 指数见表 4, TI 排序为: 6 号酒样 > 7 号酒样 > 4 号酒样 > 3 号酒样 > 2 号酒样 > 5 号酒样 > 1 号酒样。也就是说, 黑豆黄酒口感最好, 绍兴古越龙山花雕酒次之, 商品板栗黄酒再次之, 贮藏 1 年酒更次之, 炙酒后黄酒较差, 普通糯米酒更差, 最差的就是炙酒前的原酒。随着贮藏的时间延长, 酒味更加优良。从原料方面来看, 黑豆黄酒口感最好, 其次为板栗黄酒, 而普通糯米黄酒没有前两者口味好。

3.4 氨基酸的营养评价

氨基酸评分(AAS)是用来评价某一食品中氨基酸的实用价值的指标之一, 而且食品中的氨基酸模式与人体氨基酸模式拟合度越大, 必需氨基酸的利用率越高, 蛋白质营养价值也越高。AAS 是待测蛋白质中某一必需氨基酸占 WHO/FAO 评分模式中相应氨基酸含量的百分比, 这个数值反映了食物中蛋白质与人体蛋白质构成模式的接近程度。而化学评分(CS)是用于评价待测蛋白质中某一必需氨基酸的相对含量与标准全鸡蛋蛋白中相应必需氨基酸相对含量的接近程度, AAS、CS 值越接近 1, 分别说明与标准模式氨基酸组成以及标准鸡蛋蛋白质的组成越接近, 表明其营养价值越高。

本研究测定了酒样中的蛋白质含量, 折算出酒样中蛋白质基的氨基酸含量, 如表 5 所示, 并以 FAO/WHO 评价模式进行评价(表 5)。计算出的 AAS 和 CS 的趋势是一样的, 在所测的各种氨基酸模式中, 炙酒前氨基酸分值最高, 相应的分值在黑豆黄酒中也非常高, 所有的酒样排列顺序为, 1 号酒样 > 6 号酒样 > 5 号酒样 > 2 号酒样 > 3 号酒样 > 7 号酒样 > 4 号酒样, 氨基酸分值在所有的 2 个氨基酸评价体系中都表现如此趋势, 说明炙酒前氨基酸的影响价值比较好, 随着贮藏时间的延长, 氨基酸影响价值下降。从不同的发酵原料来看, 黑豆黄酒价值最优, 其次为糯米黄酒, 较好的为板栗黄酒。从氨基酸的类型来看, 不同原料和贮藏时间的黄酒, 异亮氨酸 AAS 值最高, 苯丙氨酸+酪

氨酸 AAS 值也非常高, 苏氨酸和缬氨酸的 AAS 值次之, 而黄酒中第一限制性氨基酸为甲硫氨酸和胱氨酸, 第二限制性氨基酸为亮氨酸。对比绍兴黄酒, 客家黄酒具有较高的异亮氨酸, 亮氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸+酪氨酸、苏氨酸、缬氨酸的 AAS 值, 说明客家黄酒较绍兴黄酒具有更高的营养价值。可见饮用客家黄酒, 特别是黑豆黄酒, 能够适当的增进对异亮氨酸、苯丙氨酸+酪氨酸、苏氨酸、缬氨酸的补充, 具有良好的营养价值。

RC 值反映了某一食品中氨基酸含量与特定模式氨基酸的偏离程度, 当 RC 值 > 1 时, 表明该种必需氨基酸含量相对过剩; 当 RC 值 < 1, 则表明该种必需氨基酸含量相对不足, 其中 RC 值最小的则为样品中第 1 限制性氨基酸。按照公式计算出 7 种客家黄酒的 RC 值可见表 6, 样品中异亮氨酸的 RC 值最大, 表现出营养过剩的趋势, 而黄酒中第一限制性氨基酸为甲硫氨酸和胱氨酸, 第二限制性氨基酸为亮氨酸, 客家黄酒和绍兴黄酒具有同样的趋势。

已有的研究表明, 如果某一食品中蛋白质的 EAA 组成比例与特定 EAA 模式一致, 则 $CV=0$, $SRC=100$; 若某一食品中蛋白质的 RC 越分散, 表明其 EAA 在氨基酸平衡与生理作用方面所提供的负贡献也就越大, CV 变大, SRC 变小, 其蛋白质的营养价值越差, 由此可见 SRC 越接近 100, 其营养价值相对较高。本研究中 7 种被测娘酒的 SRC 值见表 6, 可见 SRC 值在 20~30 范围左右, 处于较低的水平, 说明各个黄酒的蛋白质营养价值普遍较低。

EAAI 是不同蛋白质源的必需氨基酸与标准蛋白质必需氨基酸组成的拟合程度的指标之一, EAAI 值越大越接近 100, 则越拟合于标准蛋白质。如果食品中氨基酸越接近人体所需氨基酸的比例, 其生物学价值越高, EAAI 值越大。根据胡国宏等^[31]观点, EAAI>90 为优质蛋白源, 80~90 间为良好蛋白源, 70~80 间为可用蛋白源, EAAI<70 为不适蛋白源。从表 6 可见, EAAI 值中炙酒前和黑豆酒的 EAAI 值大于 60 以上, 说明黑豆酒和炙酒前的黄酒相对于贮藏黄酒和其他原料黄酒, 是具有较好的蛋白质的食品。

4 结论与讨论

广东客家黄酒的原料配比、发酵过程、炙酒过程、陈酿过程是关系到成品品质优劣的重要工艺阶段, 而且这几个过程中氨基酸变化幅度比较大, 因此选取这几个过程的酒液作为试验的研究对象。黄酒中的氨基酸主要来源于酿造原料的酶解和生物转化过程, 在发酵过程中, 发酵产物和酶解产物都对氨基酸的种类和含量具有重要作用。因此研究客家黄酒的氨基酸组成及营养评价对于分析客家黄酒的味道和营养价值具有重要作用。

表 5 不同酒样的氨基酸评分
Table 5 Amino acid score of different wine samples

评分类型	氨基酸/(mg/gpro)		不同编号酒样氨基酸含量及评分							
	氨基酸	氨基酸模式	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	平均值 Mean
氨基酸评分	Ile	40	1.289	1.038	0.914	0.663	1.062	1.385	0.590	0.992
	Leu	70	0.341	0.255	0.231	0.176	0.276	0.341	0.183	0.258
	Lys	55	0.698	0.439	0.369	0.286	0.461	0.533	0.277	0.438
	Met+Cys	35	0.279	0.161	0.196	0.155	0.172	0.269	0.165	0.200
	Phe+Tyr	60	0.897	0.700	0.616	0.466	0.730	0.894	0.573	0.697
	Thr	40	0.869	0.578	0.500	0.463	0.612	0.811	0.422	0.608
	Val	50	0.847	0.695	0.610	0.442	0.742	0.890	0.486	0.673
	平均	WHO/FAO 模式	0.746	0.552	0.491	0.379	0.579	0.732	0.385	0.552
化学评分	Ile	54	0.955	0.769	0.677	0.491	0.787	1.026	0.437	0.734
	Leu	86	0.278	0.207	0.188	0.143	0.225	0.278	0.149	0.210
	Lys	70	0.549	0.345	0.290	0.225	0.362	0.419	0.218	0.344
	Met+Cys	57	0.171	0.099	0.120	0.095	0.106	0.165	0.101	0.123
	Phe+Tyr	93	0.579	0.452	0.397	0.301	0.471	0.577	0.370	0.449
	Thr	47	0.740	0.492	0.426	0.394	0.521	0.691	0.359	0.517
	Val	66	0.642	0.527	0.462	0.335	0.562	0.674	0.368	0.510
	平均	全鸡蛋模式	0.559	0.413	0.366	0.283	0.433	0.547	0.286	0.412

注：酒样编号同表 1 注释。

表 6 氨基酸比值系数
Table 6 Amino acid ratio coefficient

系数类型	氨基酸/(mg/gpro)		不同编号酒样氨基酸比值系数						
	氨基酸	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	平均值 Mean
RC	Ile	2.335	1.880	1.656	1.201	1.924	2.509	1.069	1.797
	Leu	0.618	0.462	0.418	0.319	0.500	0.618	0.332	0.467
	Lys	1.264	0.795	0.668	0.518	0.835	0.966	0.502	0.793
	Met+Cys	0.505	0.292	0.355	0.281	0.312	0.487	0.299	0.362
	Phe+Tyr	1.625	1.268	1.116	0.844	1.322	1.620	1.038	1.263
	Thr	1.574	1.047	0.906	0.839	1.109	1.469	0.764	1.101
	Val	1.534	1.259	1.105	0.801	1.344	1.612	0.880	1.219
	平均	1.351	1.000	0.889	0.687	1.049	1.326	0.697	1.000
SRC	—	31.448	23.573	21.702	23.740	24.219	31.489	23.301	22.336
EAAI	WHO/FAO 模式	66.334	47.254	43.333	33.697	49.901	63.940	34.485	48.589

注：酒样编号同表 1 注释。

黄酒发酵是采用开放式发酵和双边发酵进行的，也就是说糖化和发酵是同时进行的，客家黄酒属于黄酒并与黄酒的发酵工艺相差不大。本研究选取河源的一种客家黄

酒，其酿造工艺是依据传统方法酿造的，但是在接酿工艺方面有它的独特之处，其发酵工艺为浸泡糯米、淋饭、拌曲、落缸、糖化发酵 2 d 后接酿，即接 20%体积分量的含量

50%的(50度)米酒, 2 d 后再接 80%体积分量的 36%(36度)米酒, 这样即为炙酒前的原酒, 以后再经过炙酒、勾兑、贮藏, 便形成了糖度 180 g/L、酒精度 16%的客家黄酒。粤东地区客家黄酒普遍特色之处在于采用古法酿酒, 所谓古法, 第一是使用自制圆球形手工酒饼, 第二是普遍使用糯米用作主原料, 第三是手工小型酿造, 第四是普遍使用炙酒工艺, 炙酒就是灭菌工艺, 也称为煎酒、煮酒, 比起工业化的灭菌工艺, 更能保持客家黄酒的独特风味, 也是客家娘酒的精髓之一。炙酒过程就是把黄酒倒入陶埕中, 使用当地土特燃料, 比如槽箕(客家话, 一种当地产的蕨类植物, 即植物学名铁芒萁)、花生壳、谷壳、茶籽壳, 文火炙煮, 酒温 80~90 °C, 8~9 h。从上述工艺可以看出, 炙酒过程一方面是原酒的杀菌消毒过程, 另一方面是促进酒液的美拉德反应过程。

黑豆客家黄酒的酿造过程是首先酿造炙酒前的糯米客家黄酒, 再把黑豆文火炒到半熟, 加上生姜片与糯米黄酒浸泡, 黑豆和姜片的浸泡比例每个厂家是不同的, 然后再开始炙酒过程, 炙酒后勾兑、贮藏, 形成客家特色的黑豆黄酒。板栗客家黄酒的酿造过程是糯米中添加 20%的板栗粉, 按照常规的客家娘酒酿造方式酿造。

从以上工艺可以看出, 客家黄酒酿造过程中, 氨基酸的变化、糖类含量的变化以及黄褐色酒液的产生主要在炙酒过程中发生, 发生这些变化的机理就是美拉德反应。

美拉德反应(Maillard reaction)是食品热加工和贮藏过程中存在的非酶褐变过程, 是指食品中的羰基化合物(还原糖类)和氨基化合物(氨基酸和蛋白质)间发生的复杂反应, 又称羰胺反应。并产生一系列复杂的化合物, 即美拉德反应产物(Maillard reaction products, MRPs)。MRPs 广泛存在于各种加工的食品中, 对食品的色泽、风味和营养价值产生影响。关于黄酒的美拉德反应研究目前有一些报道, 主要认为美拉德反应中一方面是氨基酸与空气中的氧气发生美拉德反应, 使氨基酸褐变黄酒色度加深, 二是氨基酸的氨基与黄酒中糖类的羧基结合生成类黑精的氨基糖, 并使黄酒色度加深^[34]。李菁等^[35]研究表明, 氨基酸含量的变化, 反映了美拉德反应的进程。而且随着加热时间的延长, 氨基酸与各种还原糖含量都呈现出下降的趋势。

本研究表明, 炙酒、贮藏过程对客家娘酒中氨基酸含量影响较大, 炙酒后氨基酸总量减少, 并且降低 20.3%, 炙酒后每一种氨基酸含量都明显降低, 其中降低最明显的是蛋氨酸和苯丙氨酸, 这 2 个氨基酸在炙酒过程中减少氨基酸含量的 50%左右, 而苏氨酸、甘氨酸、胱氨酸、赖氨酸、精氨酸在炙酒过程中降低 1/3 以上, 而亮氨酸、异亮氨酸、组氨酸在炙酒过程中氨基酸降低 20%以上, 丙氨酸和谷氨酸降低不明显。贮藏 1 年以后氨基酸总量为炙酒后的 87.6%, 降低 12.4%, 必需氨基酸为炙酒后的 89.1%, 降低 10.9%, 各组分氨基酸中对贮藏最敏感的是组氨酸和精

氨酸, 贮藏一年后含量降低 20%以上, 除蛋氨酸和苯丙氨酸以外, 其余氨基酸均降低 10%以上。

本研究中测定的客家黄酒中总氨基酸含量在 2658.99~5420.632 mg/L 之间, 最大含量的是“黑豆娘酒”, 最小含量的是商品板栗黄酒。在各个氨基酸组分中, 胱氨酸、蛋氨酸和苯丙氨酸含量最低, 而谷氨酸含量最高, 客家黄酒中最主要的氨基酸是天冬氨酸和谷氨酸, 两者合计占氨基酸总量的 20%以上, 其他中等含量的氨基酸有苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、赖氨酸精氨酸以及脯氨酸。

不同的酿造原料及其配比氨基酸含量有很大的不同, 板栗黄酒氨基酸含量低于传统的糯米黄酒。黑豆黄酒的氨基酸含量明显高于糯米黄酒的氨基酸含量, 更高于板栗黄酒的氨基酸含量。商品板栗黄酒总氨基酸仅为糯米黄酒总氨基酸的 49%, 必需氨基酸仅为 64.7%, 脯氨酸和苯丙氨酸含量为糯米黄酒的 80%, 其余氨基酸仅仅达到 50%左右。黑豆黄酒与糯米黄酒比较, 黑豆黄酒总氨基酸含量提高 42.6%, 必需氨基酸提高 23.2%, 其中胱氨酸提高 1 倍, 脯氨酸提高 92.5%, 谷氨酸提高 80.7%, 甘氨酸和丙氨酸提高 40%以上, 苏氨酸、丝氨酸、异亮氨酸提高 30%以上, 天冬氨酸、亮氨酸、酪氨酸提高 20%以上。

本研究把氨基酸分为①鲜味氨基酸、②甜味氨基酸、③苦味氨基酸和④咸味氨基酸, 前两者统计为优味氨基酸, 后两者统计为劣味氨基酸。计算不同酒样的氨基酸的味道强度即剂量比域因子 *DoT*, 在黄酒中对味道影响较大的氨基酸的 *DoT* 值得排序为 Glu > Asp > His > Ala > Lys > Tyr > Ile > Gly, 这 8 种对味道影响较大的氨基酸中属于优劣氨基酸各有 4 种, 其中只有谷氨酸(Glu)的 *DoT* 值大于 1, 说明黄酒中决定口味的氨基酸主要是谷氨酸。

本研究提出味道指数(TI)被定义为优味氨基酸的味道强度之和与劣味氨基酸的味道强度之和的比值, 这是一个总体的风味的评价指标, 如果味道指数大于 1, 说明口感和风味良好, 如果味道指数小于 1, 说明劣味氨基酸占优势, 口感和味道不佳。本研究中黄酒的 *TI* 指数排序为: 商品黑豆黄酒 > 绍兴古越龙山花雕酒 > 商品板栗糯米酒 > 贮藏 1 年的板栗糯米原酒 > 炙酒后的原酒 > 普通糯米酒 > 炙酒前原酒, 可见, 黑豆黄酒口感最好, 绍兴古越龙山花雕酒次之, 而炙酒前的原酒最差。黑豆酒和商品酒随着贮藏、勾兑和调配的工艺配合, 酒味更加优良。从原料方面来看, 黑豆黄酒口感最好, 其次为板栗黄酒, 而普通糯米黄酒没有前两者口味好。

对酒样的氨基酸评价表明, 客家黄酒氨基酸评分和化学评分的趋势是一致的, 在所测的各种氨基酸模式中, 炙酒前氨基酸分值最高, 相应的分值在黑豆黄酒中也非常高, 所有的酒样排列顺序为, 炙酒前原酒 > 商品黑豆黄酒 > 商品普通糯米黄酒 > 炙酒后原酒 > 贮藏 1 年的原酒 > 古越龙

山花雕酒 > 商品板栗黄酒, 说明炙酒前氨基酸的营养价值较好, 随着贮藏时间的延长, 氨基酸营养价值下降。从不同的发酵原料来看, 黑豆酒价值最优, 其次为糯米黄酒, 较好的为板栗黄酒。从氨基酸的类型来看, 不同原料和贮藏时间的娘酒, 异亮氨酸 AAS 值最高, 苯丙氨酸+酪氨酸 AAS 值也非常高, 苏氨酸和缬氨酸的 AAS 值次之, 而黄酒中第一限制性氨基酸为甲硫氨酸和胱氨酸, 第二限制性氨基酸为亮氨酸。对比绍兴黄酒, 客家黄酒具有较高的异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸+酪氨酸、苏氨酸、缬氨酸的 AAS 值, 说明客家黄酒较绍兴黄酒具有更好的营养。可见客家黄酒, 特别是黑豆黄酒, 能够适当的增进对异亮氨酸、苯丙氨酸+酪氨酸、苏氨酸、缬氨酸的补充, 具有良好的营养价值。

参考文献

- [1] 谢广发. 黄酒酿造技术(第二版)[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2016.
Xie GF. Brewing technology of yellow rice wine (Sec Ed) [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2016.
- [2] 罗勇. 客家娘酒与酒文化[J]. 赣南师范大学学报, 2018, (4): 29-33.
Luo Y. Hakka rice wine and its culture [J]. J Gannan Norm Univ, 2018, (4): 29-33.
- [3] 陈文锋. 传统客家娘酒的酿造工艺[J]. 客家文博, 2017, (4): 12-15.
Chen WF. Brewing technology of traditional Hakka rice wine [J]. Hakka Cultur Herit Vis, 2017, (4): 12-15.
- [4] 徐艳, 钟建坤, 杨汉彬, 等. 河源客家黄酒酿造工艺比较分析[J]. 酿酒科技, 2016, (7): 65-69.
Xu Y, Zhong JK, Yan HB, *et al.* Comparison of production techniques of Hakka yellow rice wine [J]. Liquor Mak Sci Technol, 2016, (7): 65-69.
- [5] 王琳, 夏禹, 魏宾, 等. 板栗糯米甜酒的发酵和挥发性香气成分分析[J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 284-288.
Wang L, Xia Y, Wei B, *et al.* Fermentation and volatile profile of sweet chestnut-glutinous rice wine [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(15): 284-288.
- [6] 王蔚新, 付晓燕, 程水明. 板栗酒生产中糖化工艺研究[J]. 中国酿造, 2011, (1): 177-179.
Wang WX, Fu XY, Cheng SM. Optimization of saccharification process in the production of Chinese chestnut wine [J]. Chin Brew, 2011, (1): 177-179.
- [7] 葛伟楠, 邹静, 李斌, 等. 板栗大米清酒酒曲选择及氨基酸含量测定[J]. 中国酿造, 2018, 37(11): 62-65.
Ge YN, Zou J, Li B, *et al.* Selection of Jiuqu for Chinese chestnut-rice sake and determination of amino acid content [J]. Chin Brew, 2018, 37(11): 62-65.
- [8] 邹静, 孟军, 张建才, 等. 红曲板栗糯米酒酿造工艺研究[J]. 酿酒科技, 2017, (2): 65-67.
Zou J, Meng J, Zhang JC, *et al.* Production of monascus chestnut glutinous rice wine [J]. Liquor Mak Sci Technol, 2017, (2): 65-67.
- [9] 钱敏, 汤斯斯, 赵文红, 等. 原料米对广东客家黄酒发酵及产 γ -氨基丁酸的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(7): 15-19.
Qian M, Tang SS, Zhao WH, *et al.* Effect of raw rice on fermentation and GABA production of Guangdong Hakka rice wine [J]. Sci Technol Food Ind, 2018, 39(7): 15-19.
- [10] 曹甜, 刘晓艳, 刘露, 等. 客家黄酒多糖提取工艺的优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业, 2018, 39(10): 40-45.
Cao T, Liu XY, Liu L, *et al.* Optimization of extraction process and antioxidant activity of polysaccharides from Hakka rice wine [J]. Food Ind, 2018, 39(10): 40-45.
- [11] 白卫东, 韩珍, 赵文红, 等. 客家黄酒中多酚类物质的研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(8): 261-267.
Bai WD, Han Z, Zhao WH, *et al.* Study on the phenolic compounds in Hakka rice wine [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2013, 13(8): 261-267.
- [12] 田翔, 王君杰, 秦慧彬, 等. 超高效液相色谱法测定不同黄酒中 17 种氨基酸的分析研究[J]. 酿酒科技, 2019, (11): 74-82.
Tian X, Wang JJ, Qin HB, *et al.* Determination of 17 kinds of free amino acids in different Huangjiu products by UPLC [J]. Liquor Mak Sci Technol, 2019, (11): 74-82.
- [13] 龚金炎, 单之初, 潘兴祥, 等. 传统手工黄酒发酵过程中常见游离氨基酸和 γ -氨基丁酸的变化研究[J]. 中国食品学报, 2017, 17(5): 232-238.
Gong JY, Shan ZC, Pan XX, *et al.* Studies on common free amino acid and γ -aminobutyric acid contents change in the fermentation process of manual Chinese rice wine [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2017, 17(5): 232-238.
- [14] 黄雪松, 陈磊. 不同黄酒部位的沉淀蛋白质氨基酸组成分析[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(10): 25-27.
Huang XS, Cheng L. Components of amino acids of haze protein from the different setting fraction in Chinese rice wine [J]. Food Ferment Ind, 2011, 37(10): 25-27.
- [15] 张辉, 袁军川, 毛严根, 等. 机制黄酒酿造生产过程中氨基酸变化研究[J]. 酿酒科技, 2009, (2): 37-39.
Zhang H, Yuan JC, Mao YG, *et al.* Research on the change of amino acid content in mechanized production of yellow rice wine [J]. Liquor Mak Sci Technol, 2009, (2): 37-39.
- [16] 王雅琴, 李绪昆. 采用氨基酸自动分析仪测定黄酒中的游离氨基酸[J]. 食品与发酵工业, 1987, (4): 10-16.
Wang YQ, Li XK. Determination of free amino acids in rice wine by amino acids auto-analyzer [J]. Food Ferment Ind, 1987, (4): 10-16.
- [17] 日立高新技术株式会社. L-8900 高速氨基酸分析仪(主机)使用说明书[Z]. Hitachi High-Technologies Corporation. L-8900 User manual for high speed amino acid analyzer(main unit) [Z].
- [18] GB 5009.124-2016 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定[S]. GB 5009.124-2016 National food safety standard-Determination of amino acids in food.
- [19] GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S]. GB 5009.124-2016 National food safety standard-Determination of protein in food [S].
- [20] Zhao C, Schieber A, Gänzle M. Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations [J]. Food Res Int, 2016, 89(8): 39-47.
- [21] Rotzoll N, Dunkel A, Hofmann T. Quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments on the key taste compounds in morel mushrooms [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(7): 2705-2711.
- [22] 孙凌, 周先汉, 曾庆梅, 等. 超高压处理对黄酒氨基酸含量影响研究[J]. 食品工业, 2015, 36(10): 131-136.
Sun L, Zhou XH, Zeng QM, *et al.* Effect of ultra high pressure treatment

- on amino acid content of rice wine [J]. *Food Ind*, 2015, 36(10): 131–136.
- [23] McCarthy C, Kelly P, Wilkinson M. Effect of fat and salt reduction on the changes in the concentrations of free amino acids and free fatty acids in Cheddar-style cheeses during maturation [J]. *J Food Comp Anal*, 2017, 59(16): 132–140.
- [24] Liu H, Zhang N, Cui M. Probing the interactions between cisplatin and essential amino acids using electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Int J Mass Spect*, 2016, 409(9): 59–66.
- [25] Phat C, Moon B, Lee C. Evaluation of Umami taste in mushroom extracts by chemical analysis, sensory evaluation, and an electronic tongue system [J]. *Food Chem*, 2016, 192(7): 1068–1077.
- [26] 王秀莉, 于雪荣, 赵紫薇, 等. 安徽省 3 类淡水水产品中氨基酸分析及评价[J]. *中国食物与营养*, 2019, 25(10): 65–68, 77.
Wang XL, Yu XR, Zhao ZW, *et al.* Analysis and evaluation on amino acids in three categories of freshwater products in Anhui province [J]. *Food Nutri Chin*, 2019, 25(10): 65–68, 77.
- [27] 张锴正, 曹新志, 肖雄峻. 啤酒的氨基酸组成及营养评价[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(3): 202–206.
Zhang KZ, Cao XZ, Xiao XJ. Amino acid compositions and nutritional evaluation of Za wine [J]. *Food Ferment Ind*, 2016, 42(3): 202–206.
- [28] 周建弟. 浅谈黄酒中氨基酸及其含量的控制[J]. *酿酒科技*, 2002, (4): 73–74.
Zhou JD. Discussion on amino acid in yellow rice wine and controls its content [J]. *Liquor-making Sci Technol*, 2002, (4): 73–74.
- [29] 范培珍, 薄晓培, 王梦馨, 等. 4 个等级内山六安瓜片茶叶氨基酸的组成及差异[J]. *安徽农业大学学报*, 2017, 44(1): 14–21.
Fan PZ, Bo XP, Wang MX, *et al.* Similarities and differences in composition of amino acids in four grades of Liu'an Neishan Guapian tea [J]. *J Anhui Agric Univ*, 2017, 44(1): 14–21.
- [30] 孙颖, 张莉莉, 张玉玉, 等. 3 种酶解液中游离氨基酸的分析[J]. *精细化工*, 2018, 35(6): 1004–1008, 1014.
Sun Y, Zhang LL, Zhang YY, *et al.* Analysis of free amino acids in three kinds of enzymatic hydrolysates [J]. *Fine Chem*, 2018, 35(6): 1004–1008, 1014.
- [31] Otagiri, Yasuharu N, Ichizo S. Studies on a model of bitter peptides including arginine, proline and phenylalanine residues. I. bitter taste of di- and tripeptides, and bitterness increase of the model peptides by extension of the peptide chain [J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49(4): 1019–1026.
- [32] Report of a joint FAO/WHO Ad Hoc expert committee, energy and protein requirements [Z].
- [33] 胡国宏, 刘英. 利用必需氨基酸指数(EAAI)评价与饲料蛋白源[J]. *中国饲料*, 1995, (15): 29–31.
Hu GH, Liu Y. Evaluation of feed protein sources by essential amino acid index (EAAI) [J]. *Chin Feed*, 1995, (15): 29–31.
- [34] 魏桃英, 张秋汀. 绍兴黄酒生产及贮存中的美拉德反应[J]. *酿酒科技*, 2011, (5): 76–80.
Wei TY, Zhang QD. Study on maillard reaction in the production and the storage of Shaoxing yellow rice wine [J]. *Liquor Mak Sci Technol*, 2011, (5): 76–80.
- [35] 李菁, 刘骞, 孔保华, 等. *L*-赖氨酸与 3 种还原糖美拉德反应产物的理化特性及抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2013, 34(3): 80–85.
Li J, Liu Q, Kong BH, *et al.* Physico-chemical properties and antioxidant activity of maillard reaction products from *L*-lysine and reducing sugar model system [J]. *Food Sci*, 2013, 34(3): 80–85.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



高云超, 博士, 研究员, 主要研究方向为微生物学与食品生物技术。
E-mail: yunchaogao@126.com