

谷物酿造料酒氨基酸态氮含量和级别的快速检测

高向阳^{1,2*}, 王彦花^{1,2}, 郭楠楠^{1,2}

(1. 郑州科技学院食品科学与工程学院, 郑州 450064; 2. 郑州市食品安全快速检测重点实验室, 郑州 450064)

摘要: **目的** 建立一种快速检测谷物酿造料酒中氨基酸态氮含量的新方法。**方法** 以 GB 5009.235—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》为基础, 以国产料酒为样品, 以天然色素为显色剂, 样品中的氨基酸通过中性甲醛转化后, 依据等物质的量的反应原则, 加入所需等量的强碱进行反应, 以反应体系的颜色变化快速鉴别谷物酿造料酒的级别。**结果** 紫甘蓝色素为紫色或红色时, 各级别谷物酿造料酒的氨基酸态氮和级别符合 T/GB 8101—2019《谷物酿造料酒》, 产品合格; 若呈现蓝紫、蓝、绿或黄色, 可判定为不合格产品。该判定结果与 GB 5009.235—2016 方法结果对照一致。**结论** 该法无需使用酸度计进行滴定, 现象明显、快速直观、操作简单、成本低廉、适用性广, 可用于现场快速检测, 有一定的创新性和推广应用价值, 为酿造料酒质量的快速检测提供了有益参考。

关键词: 谷物酿造料酒; 氨基酸态氮; 快速检测; 紫甘蓝色素

Rapid determination of amino acid nitrogen content and grade in cooking wine of grain brewing

GAO Xiang-Yang^{1,2*}, WANG Yan-Hua^{1,2}, GUO Nan-Nan^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Zhengzhou University of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China; 2. Zhengzhou City Food Safety Rapid Test Key Laboratory, Zhengzhou 450064, China)

ABSTRACT: Objective To establish a new method for rapid determination of amino acid nitrogen content in grain brewing wine. **Methods** Based on GB 5009.235—2016 *National standard for food safety-Determination of amino acid nitrogen in food*, domestic cooking wine was used as sample, and the natural pigment was used as chromogenic agent, after the amino acid of the sample was transformed by neutral formaldehyde, the reaction principle of equal amount of substance was followed by adding the required equal amount of strong alkali for the rapid reaction and identification of the grade of grain brewing wine with the color change of the reaction system. **Results** When the pigment of purple cabbage was purple or red, the amino acid nitrogen and grades of the grain brewing wine of each grade met T/GB 8101—2019 *Grain makes cooking wine*, and the product was qualified; when the pigment of purple cabbage was blue-violet, blue, green or yellow, the grain brewing wine could be judged as an unqualified product. The results were consistent with the GB 5009.235—2016 method. **Conclusion** The method does not need to use acidity meter for titration. It is rapid and intuitive, simple to operate, obvious phenomenon, low cost, wide applicability, and conducive to rapid on-site detection. It has certain innovation and application value, and provides a useful reference for the rapid detection of the quality of brewed cooking wine.

KEY WORDS: grain brewing wine; amino acid nitrogen; rapid detection; pigment of purple cabbage

*通信作者: 高向阳, 教授, 主要研究方向为食品质量与安全快速检测新方法、新技术的研究。E-mail: ndgaoxy@163.com

*Corresponding author: GAO Xiang-Yang, Professor, College of Food Science and Engineering, Zhengzhou University of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China. E-mail: ndgaoxy@163.com

0 前言

调味料酒是以发酵酒、蒸馏酒或食用酒精成分为主体,添加食用盐(可加入植物香辛料),配制加工而成的液体调味品(SB/T 10416—2007《调味料酒》),常见的调味料酒有麦曲蜂蜜料酒^[1]、杏鲍菇料酒^[2]、葱姜料酒^[3]、酶解虾皮料酒^[4]和谷物酿造料酒(T/CBJ 8101—2019《谷物酿造料酒》)等。谷物酿造料酒强调以谷物为主要原料,含有蛋白质、氨基酸、糖和多种微量元素,经常食用对人体健康非常有益^[5-6]。其中,氨基酸态氮是衡量谷物酿造料酒质量的重要参数,其值越高,谷物酿造料酒的鲜味越好,品质越高。目前,检测食品中氨基酸态氮的方法主要有 GB 5009.235—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》规定的方法、红外-电子鼻法^[7]、电子舌法^[8]、高效液相色谱法^[9-10]等,这些方法需用精密仪器、操作繁杂、检测时间较长、结果需要计算,且判断不直观且易受仪器条件、实验室设备等多种因素制约^[11],给现场快速检测工作带来诸多不便。

目前,快速检测方法是食品安全质量检测的主要发展趋势^[12],检测涉及的种类和分析技术众多^[13-14]。氨基酸含量是评价谷物酿造料酒品质的主要指标(T/CBJ 8101—2019),氨基酸中含有氨基和羧基,氨基呈碱性,羧基呈酸性。氨基与中性甲醛反应后失去碱性,同时产生等物质量的酸性物质羧基(-COOH)。羧基与达到料酒各级别所需最低要求的等物质量的强碱反应后,如果羧基(-COOH)剩余,则样品中氨基酸态氮的含量高,样品是符合相应级别的合格产品。反之,如果强碱余剩,样品中的氨基酸氮含量低于各级别所需最低要求,则产品不合格。以天然色素呈色为判别依据,可以快速判别各级产品是否合格。基于此,本研究拟采用来源丰富的天然色素作为显色剂,构建谷物酿造料酒中氨基酸态氮含量和级别的快速检测方法,为酿造料酒产品级别快速鉴定和质量快速检测单位和部门提供借鉴及参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

厨之宝料酒、八道酿厨用花雕料酒(会稽山绍兴酒股份有限公司);沈永和厨用花雕(浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司);老恒和谷物酿造料酒(湖州老恒和酿造有限公司),以上样品标签均标明为一级产品。

新鲜紫甘蓝、红心火龙果、红枸杞购自郑州市丹尼斯日鲜超市;红色月季花、紫荆花采自郑州市。

甲醛(质量浓度为 36%~38%)、邻苯二甲酸氢钾基准试剂(含量 99.95%~100.05%)(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司);氢氧化钠(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司);盐酸(分析纯,天津市科密欧化学试剂开发中心);

所用水为怡宝纯净水(电导率为 2.26 $\mu\text{S}/\text{cm}$)。

1.2 仪器与设备

PXSJ-216 离子分析仪、JB-10 型搅拌器、101-O-ABS 电热鼓风干燥箱(上海科恒实业发展有限公司);BS224S 型电子天平(北京市赛多利斯科学仪器有限公司);JPT-1-I 型架盘天平(福州华志科学仪器有限公司)。

1.3 实验方法

用移液枪吸取谷物酿造料酒样液 1.00 mL 于 25 mL 比色管中,加 5 mL 水,加 2~3 滴紫甘蓝色素,摇匀,滴加 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液至为蓝紫色,加 2.1 预处理后的甲醛 2 mL 后,加入 1.00 mL 相应目标浓度的氢氧化钠溶液摇匀,若溶液为红色或紫红色,则产品合格;溶液为蓝色、绿色或黄色,则产品不合格。

2 结果与分析

2.1 甲醛溶液的预处理

甲醛试剂中常含有甲酸,会干扰测定结果,必须预先进行处理。向 500 mL 质量浓度为 36%~38% 甲醛试剂中加入紫甘蓝色素 2 mL,用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液滴至呈蓝紫色,盖好瓶盖,室温下保存备用,用时需保持甲醛溶液呈蓝紫色。

2.2 天然色素的选择

选择红心火龙果、紫甘蓝、紫荆花、红色月季花和红枸杞色素用水各按料液比 1:10 ($m:V$)在 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上提取 20 min,冷至室温。分别取 3 滴加入到 pH 2~13 的 20 mL 系列水溶液中观察。结果表明:红心火龙果和红色月季花的颜色不随溶液 pH 的变化而明显变化,红枸杞色素在 pH 2~13 的溶液中均呈红色,与文献报道一致^[15-16],紫荆花色素在 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴时褪色。紫甘蓝色素随溶液酸度的变化而发生明显的变化。因此,选择紫甘蓝色素作为快速检测的呈色鉴别剂。

2.3 紫甘蓝色素的提取

紫甘蓝色素在不同 pH 下有查尔酮、无色的醇型假碱、蓝色的醌型碱和红色的黄痒盐阳离子 4 种形态^[17],它们之间存在着平衡反应和具有可变色的特点。紫甘蓝色素也是天然、安全的食用色素,其来源丰富,在紫甘蓝中含量高^[18],由于易溶于水溶液,提取方便,无需纯化,可在水溶液中作为酸碱指示剂直接使用^[19-21],成本较低。

称取新鲜切碎的紫甘蓝 20 g 于小烧杯中,加 80 mL 水,于 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上提取 20 min,做 5 份平行,滤除残渣,提取液合并后继续浓缩至约 30 mL 冷却,置于滴瓶中备用。取色素浓缩液 3 滴分别滴加到 pH 2~13 已调好酸度的系列比色管中摇匀,颜色变化如表 1 所示。

由表 1 可知, 紫甘蓝色素颜色变化明显, 在 pH 2~8.4 溶液中呈红色、红紫或紫红色, 在 pH 8.6~10 溶液中呈蓝紫至蓝色, 在 pH 11.0 的溶液中呈绿色, pH 12.0~13.0 的强碱溶液中为黄色。

2.4 快速检测方法建立

2.4.1 氢氧化钠目标浓度的设定

T/CBJ 8101—2019 中谷物酿造料酒中氨基酸态氮(以 N 计)含量大于等于 0.40 g/L 为特级, 含量介于 0.30~0.40 g/L 为一级, 含量在 0.20~0.30 g/L 之间为二级。各级别谷物酿造料酒中的氨基酸态氮转化出的羧基的最低浓度应为: 特级: 0.40/14.01=0.028551 mol/L; 一级: 0.30/14.01=0.021413 mol/L; 二级: 0.20/14.01=0.014276 mol/L。

根据等物质的量反应原则, 检测料酒品质级别所用氢氧化钠标准溶液的目标浓度依次为特级 0.028551 mol/L、一级 0.021413 mol/L 和二级 0.014276 mol/L。按照 GB/T 601—2016《化学试剂 标准滴定溶液的制备》进行标定。先用天平依次称取氢氧化钠试剂 0.5710、0.4283 和 0.2855 g, 分别置于小烧杯中, 各加约 10 mL 水溶解后, 分别移入 500 mL 容量瓶中, 用水定容、混匀后备用。

2.4.2 氢氧化钠目标浓度的标定和调节

分别准确称取于 105 °C 烘至恒重的邻苯二甲酸钾基准试剂 0.14、0.11 和 0.072 g(均称准至 0.0001 g)于锥形瓶中, 各加紫甘蓝色素 4 滴, 用上述目标浓度的氢氧化钠溶液标定, 至溶液由紫红色刚好变为蓝紫色, 30 s 不褪为终点。各浓度分别进行 4 次平行标定, 检验无可疑值后取平均值。若标定的浓度大于目标浓度, 计算加入水的体积, 混匀后再次标定; 若浓度小于目标浓度, 计算加入的固体氢氧化钠的量, 混匀后再次标定, 直至达到目标浓度。

2.5 对照测定结果

按照 GB 5009.235—2016 酸度计法对样品进行 4 次平行测定, 检验无可疑值后取平均值。用移液枪各取 1.00 mL 于 25 mL 比色管中, 加 5 mL 水, 加 3 滴紫甘蓝色素, 摇匀, 滴加 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液至为蓝紫色, 加 2.1 预处理后的甲醛溶液 2 mL, 加入 0.021413 mol/L 氢氧化钠溶液 1.00 mL 摇匀, 观察溶液颜色, 同时按 GB 5009.235—2016 规定方法进行测定, 测的结果如表 2 所示。

由表 2 可知, 样品氨基酸态氮均大于标注的一级产品氨基酸态氮最低含量, 快速检测溶液均呈现为红紫色, 皆为一级合格产品。其中, 老恒和谷物酿造料酒的质量最好, 氨基酸态氮(以 N 计)含量为 0.5762 g/L, 大于特级 0.40 g/L 的规定。表 2 表明, 本研究所建立的方法与 GB 5009.235—2016 规定方法测定计算结果一致, 可根据溶液颜色变化快速判别产品质量和级别, 可用于现场快速检测, 具有一定的创新性和实用价值。

2.6 用稀释样品验证

将表 2 中的原始样品稀释一倍, 混匀后作为样品。用移液枪各取 1.00 mL 于 25 mL 比色管中, 加 5 mL 水, 加 3 滴紫甘蓝色素, 摇匀, 滴加 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液至为蓝紫色, 加 2 mL 预处理的甲醛后, 加入 0.021413 mol/L 氢氧化钠溶液 1.00 mL 摇匀, 观察溶液颜色, 同时按 GB 5009.235—2016 规定方法进行测定, 结果如表 3。

从表 3 可知, 原谷物料酒样品稀释 1 倍后, 快速检测试剂管中试液的颜色为绿色, 是不合格的一级产品。按国标方法测定的氨基酸态氮结果均低于商标标注值, 不符合一级产品指标, 但 GB 5009.235—2016 规定方法测得的老恒和谷物酿造料酒中氨基酸态氮相对含量较高, 用水稀释 1 倍后仍符合二级产品的要求值。

表 1 紫甘蓝色素呈色与 pH 对应关系
Table 1 Color of purple cabbage pigment corresponded with pH

pH 值	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	8.2	8.4	8.6	8.8	9.0	10.0	11.0	12.0	13.0
溶液颜色	红色	红色	红紫	红紫	红紫	红紫	红紫	紫红	紫红	蓝紫	蓝紫	蓝	蓝	绿	浅黄	深黄

表 2 与 GB 5009.235—2016 酸度计法测定结果的对比(n=4)
Table 2 Results compared with acidity meter method of GB 5009.235—2016 (n=4)

样品	GB 5009.235—2016 测定氨基酸态氮/(g/L)	试剂管颜色→结果	商标标注氨基酸态氮(以 N 计)一级最低含量/(g/L)
厨之宝料酒	0.3276	红紫→一级合格	0.30
八道酿厨用花雕料酒	0.3599	红紫→一级合格	0.30
沈永和厨用花雕料酒	0.3911	红紫→一级合格	0.30
老恒和谷物酿造料酒	0.5762	红紫→特级合格	0.30

表 3 稀释 1 倍后与 GB 5009.235—2016 的对照测定结果
Table 3 Results compared with GB 5009.235—2016 after dilution 1 times

样品	GB 5009.235—2016 法 测定氨基酸态氮/(g/L)	试剂管颜色→结果
厨之宝料酒	0.1606	绿→一级不合格
八道酿厨用花雕 料酒	0.1705	绿→一级不合格
沈永和厨用花雕 料酒	0.1878	绿→一级不合格
老恒和谷物酿造 料酒	0.2624	绿→一级不合格

3 结 论

根据 T/CBJ 8101—2019 中各级别氨基酸态氮合格的最低要求,用中性甲醛转化样品后,加入与所取样品中转化出的酸性物质(-COOH)等物质量的一元强碱快速反应。若样品溶液中羧基(-COOH)剩余,紫甘蓝色素呈现红色、红紫或紫红色,则样品是相应级别的合格产品;若呈现蓝紫、蓝、绿或黄色,可判定为不合格产品。该快速检测方法无需标准溶液进行电位滴定,无需计算、操作简单、成本低廉、快速方便、现象明显、判断直观,取样后,3 min 可获得与 GB 5009.235—2016 完全一致的检测结果,适用于现场快速检测,有较强的实用性、创新性和推广应用价值。

参考文献

[1] 林春瑶, 刘功良, 高苏娟, 等. 麦曲协同蜂蜜接合酵母用于料酒的酿制[J]. 食品工业, 2021, 42(4): 111–115.
LIN CY, LIU GL, GAO SJ, *et al.* The fermentation of cooking wine with zygosaccharomyces mellis [J]. Food Ind, 2021, 42(4): 111–115.

[2] 刘娜, 杨柳, 何述栋, 等. 杏鲍菇料酒的研制及风味研究[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(4): 123–128.
LIU S, YANG L, HE SD, *et al.* Pleurotus eryngii cooking wine and its flavor [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(4): 123–128.

[3] 肖蒙, 毛严根, 俞剑葵. 一种葱姜料酒的开发[J]. 中国调味品, 2015, 40(9): 85–87.
XIAO M, MAO YG, YU JS. The development of a kind of cooking wine with chive and ginger [J]. Chin Cond, 2015, 40(9): 85–87.

[4] 刘娜, 杨柳, 何述栋, 等. 酶解虾皮用于料酒生产的研究[J]. 中国调味品, 2018, 43(8): 67–71, 75.
LIU S, YANG L, HE SD, *et al.* Study on enzymatic hydrolysis of dried shrimp for cooking wine production [J]. Chin Cond, 2018, 43(8): 67–71, 75.

[5] 思雨. 料酒团体标准实施 强调谷物为主要原料[J]. 中国食品, 2019, (8): 156.

SI Y. Cooking wine group standards emphasize grain as the main raw material [J]. China Food, 2019, (8): 156.

[6] 钟然. 谷物酿造料酒首发新团标 料酒走出“野蛮生长”时代[J]. 中国酒, 2020, (1): 62–63.
ZHONG R. A new group brand of cereal-brewed wine out of the "wild growth" era [J]. China Wine, 2020, (1): 62–63.

[7] LI Z, YU Y, DONG CG, *et al.* Rapid quality discrimination and amino nitrogen quantitative evaluation of soy sauces by tri-step IR and e-nose [J]. Food Anal Methods, 2018, 11: 3201–3210.

[8] 汤海青, 顾晓俊, 陈祖满, 等. 基于电子舌的料酒味觉特征辨识与定量分析[J]. 核农学报, 2020, 34(5): 1054–1060.
TANG HQ, GU XJ, CHEN ZM, *et al.* Taste identification and quantitative analysis of cooking wines based on electronic tongue [J]. Acta Agric Nucl Sin, 2020, 34(5): 1054–1060.

[9] SHEN F, YING YB, LI BB, *et al.* Multivariate classification of rice wines according to ageing time and brand based on amino acid profiles [J]. Food Chem, 2011, 129(2): 565–569.

[10] 阎文飞, 程凡升, 郭瑞, 等. 北方黄酒陈酿过程中主要成分含量及其变化趋势[J]. 中国酿造, 2017, 36(5): 72–75.
YAN WF, CHENG FS, GUO R, *et al.* The content and trend of main components in northern rice wine during aging [J]. China Brew, 2017, 36(5): 72–75.

[11] 陈爱亮. 食品安全快速检测技术现状及发展趋势[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 411–414.
CHEN AIL. Advancements in rapid-testing technology in food safety [J]. J Food Saf and Qual, 2021, 12(2): 411–414.

[12] 冯蕙, 赵新玉, 赵晨, 等. 快速检测技术在食品安全中的应用研究进展[J]. 食品安全导刊, 2021, (5): 59–63.
FENG H, ZHAO XY, ZHAO C, *et al.* Research progress in the application of rapid detection technology in food safety [J]. Chin Food Saf Magaz, 2021, (5): 59–63.

[13] 卫贾华, 苏娜. 快速检测技术在食品安全监管中的应用[J]. 中国食品, 2021, (8): 126.
WEI JH, SU N. Application of rapid detection technology in food safety supervision [J]. China Food, 2021, (8): 126.

[14] 张旭伟, 马振兴, 马勇. 食品安全快速检测技术现状及发展[J]. 食品安全导刊, 2021, (8): 25–26.
ZHANG XW, MA ZX, MA Y. Current situation and development of rapid detection technology for food safety [J]. Chin Food Saf Magaz, 2021, (8): 25–26.

[15] 冯文婕. 枸杞食用色素的提取及稳定性研究[J]. 广州化工, 2018, 46(24): 32–34.
FENG WJ. Study on extraction and stability of Lycium barbarum edible pigment [J]. Guangzhou Chem Ind, 2018, 46(24): 32–34.

[16] 高向阳, 徐雅莉, 黄亚亭. 郑州枸杞色素的稳定性及其吸收曲线动力学特性研究[J]. 河南科学, 2010, 28(12): 1539–1542.
GAO XY, XU YL, HUANG YT. Study on Stability and dynamic property of absorption spectrums of medlar fruits pigment [J]. Henan Sci, 2010, 28(12): 1539–1542.

- [17] 鲁蓉蓉, 董海丰, 汪无际, 等. 紫甘蓝色素在酸碱滴定中的应用研究[J]. 三峡大学学报(自然科学版), 2008, (4): 76–78.
LU RR, DONG HF, WANG WJ, *et al.* Application of purple cabbage pigment in acid-base titration [J]. J China Three Gorges Univ (Nat Sci Ed), 2008, (4): 76–78.
- [18] 蒋晓岚, 石渝凤, 付周平, 等. 紫甘蓝矢车菊色素甘的分析及其甘元的制备[J]. 食品科学, 2019, 40(10): 257–264.
JIANG XL, SHI YF, FU ZP, *et al.* Analysis and preparation of cyanidin glycosides from purple cabbage [J]. Food Sci, 2019, 40(10): 257–264.
- [19] TORSKANGER POLL K, ANDERSEN OM. Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values [J]. Food Chem, 2005, 89(3): 427–440.
- [20] LI J, LI XD, ZHANG Y, *et al.* Identification and thermal stability of purple-fleshed sweet potato anthocyanins in aqueous solutions with various pH values and fruit juices [J]. Food Chem, 2013, 136(3/4): 1429–1434.
- [21] 吕楚滢, 刘军民. 紫甘蓝色素的提取纯化及性质分析[J]. 当代化工研究, 2021, (5): 116–118.
LU CY, LIU JM. Extraction purification and properties analysis of purple cabbage pigment [J]. Contemp Chem Ind Res, 2021, (5): 116–118.

(责任编辑: 郑 丽 于梦娇)

作者简介



高向阳, 教授, 主要研究方向为食品质量与安全快速检测新方法、新技术的研究。
E-mail: ndgaoxy@163.com