

文章编号:1673-2383(2018)01-0016-05

网络出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1378.N.20180209.1423.006.html>

网络出版时间:2018-2-9 14:24:21

# 黄酒陈化中产生褐变的影响因素研究

惠明<sup>1</sup>, 邱聪<sup>1</sup>, 张会娟<sup>1,2</sup>, 田青<sup>1</sup>

(1.河南工业大学生物工程学院,河南郑州 450001;2.中央储备粮重庆直属库有限公司,重庆 400070)

**摘要:**黄酒色泽是反映黄酒陈化品质的重要指示因子。为了进一步揭示黄酒的褐变机制,为黄酒陈化过程控制提供理论依据,以糯米黄酒为例,对可能影响其陈化的生物因素(微生物和酶)、化学因素(pH和O<sub>2</sub>)和物理因素(温度和光照)进行了研究,并通过对试验结果的方差分析和Tukey's HSD多重比较来探讨影响糯米黄酒陈化过程的关键因素。结果表明:糯米原酒中存在着丰富的酶和微生物,压酒和煎酒操作会对糯米黄酒的褐变产生显著影响,但压酒和煎酒处理后,酶和微生物失活,生物因素对糯米黄酒后续的陈化褐变无显著影响;化学因素中,O<sub>2</sub>对糯米黄酒褐变的影响极显著,陶坛的微氧环境有利于糯米黄酒的褐变,采用人工供氧时以2 mL/100 mL为宜;黄酒陈化过程中的pH一般维持在3.8~4.6,在此范围内,pH对糯米黄酒褐变的影响极显著,过高的pH则会抑制糯米黄酒的褐变反应;物理因素中,温度对糯米黄酒褐变的影响极显著,适当提高温度,可以加速美拉德等褐变反应,从而促进糯米黄酒的褐变;光照对糯米黄酒褐变的影响也极显著,光照可以为多酚的氧化聚合提供能量,从而加速糯米黄酒的褐变。

**关键词:**黄酒;褐变;影响因素;显著性;多重比较

**中图分类号:**TS261.4

**文献标志码:**B

## 0 引言

黄酒是米酒醪经过榨酒过滤、煎酒、陈化(后熟)等操作而成的酿造酒,其陈化是指新酿黄酒通过贮存过程中的各种理化反应而达到色愈深、香愈馥、味愈醇、质愈佳的品质和状态<sup>[1-2]</sup>,该过程对黄酒的品质起着决定性作用。黄酒色泽是陈化度的主要评价指标之一<sup>[3]</sup>,研究黄酒褐变的影响因素有利于揭示黄酒的褐变机理,对其品质控制也具有较大的应用价值。目前关于褐变反应的研究多集中在高温、碱性条件下<sup>[4-6]</sup>,而实践中黄酒陈化一般控制在5~20℃,pH 3.8~4.6之间<sup>[7]</sup>,两者差异较大。黄酒作为一个独特、稳定、复杂的生物体系,是否存在微生物和酶等生物因素影响黄酒的陈化也需要进一步探究。作者以新酿糯米酒为对象,探究

了生物因素(微生物、酶)、化学因素(pH、氧气)、物理因素(温度、光照)等对黄酒褐变的影响,旨在进一步阐明黄酒的褐变机理,为黄酒陈化品质控制提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

糯米原浆酒:郑州喜慧源食品有限公司;Folin试剂:SanGong Biotech公司;无水碳酸钠、三氯乙酸等均为分析纯。

### 1.2 主要仪器与设备

Epoch微孔板UV-Vis分光光度计:美国Bio Tek Instruments公司;723N可见分光光度计:上海精密科学仪器有限公司;DHP-9052型恒温培养箱:上海一恒科学仪器有限公司;全自动新型ZXSD-A1160生化培养箱:上海智城分析仪器制造公司。

### 1.3 样品前处理

依据GB/T 13662—2008《黄酒》测定原浆糯米的酒精度为4%(V/V)。一般黄酒的酒精度为15%~18%,取部分原酒样品用牛栏山二锅头白酒

收稿日期:2017-07-15

基金项目:河南省科技攻关项目(152102210063);河南省谷物资源转化与利用重点实验室开放课题(PL2016006)

作者简介:惠明(1969—),男,河南南阳人,博士,教授,研究方向为工业微生物与发酵工程。

进行压酒处理,调酒精度至15%,再取部分压酒样品,85℃水浴加热维持15 min,进行煎酒处理。

#### 1.4 生物因素对黄酒褐变的影响

##### 1.4.1 黄酒中酶活力的测定

蛋白酶活力测定:依据SB/T 10317—1999方法;糖化酶活力测定:依据GB 8276—2006方法;多酚氧化酶(PPO)活力测定:以未处理的原酒样品、压酒后样品以及煎酒后样品为对象,依据侯杰<sup>[8]</sup>的方法测定。

##### 1.4.2 黄酒中微生物的测定

分别测定未处理的原酒样品、压酒后样品以及压酒并煎酒后样品中的微生物菌落总数。测定方法依据GB 4789.2—2010。

##### 1.4.3 压酒及煎酒处理对黄酒褐变的影响

分别取35 mL未处理的原酒样品、压酒后样品以及煎酒后样品置于50 mL配有硅胶塞的小三角瓶中,静置于自然光下陈化。

#### 1.5 化学因素对黄酒褐变的影响

##### 1.5.1 氧气对黄酒褐变的影响

取100 mL带丁基胶塞(不透气)的生理盐水瓶,装满黄酒样品(经压酒及煎酒处理)。在无菌操作台中用一次性注射器分别向黄酒中注入1、2、3、4 mL无菌空气,作为人工供氧组,以不通风处理的作为对照组。另外用100 mL陶瓷坛装满酒液作为陶坛组,探究装酒容器的透气性对黄酒褐变陈化的影响。样品均于黑暗处(陶坛不透光)进行静置陈化。

##### 1.5.2 pH对黄酒褐变的影响

取35 mL煎酒后黄酒置于50 mL配硅胶塞的三角瓶中,分别用乳酸和乳酸钠调节pH值3.8、4.1、4.4、4.6,静置于自然光下进行陈化。验证试验中总糖含量的测定参照GB/T 13662—2008《黄酒》中的亚铁氰化钾滴定法进行。

#### 1.6 物理因素对黄酒褐变的影响

##### 1.6.1 温度对黄酒褐变的影响

取35 mL煎酒后黄酒置于50 mL配硅胶塞的小三角瓶中,分别于8、12、16、20℃恒温静置陈化。

##### 1.6.2 光照对黄酒褐变的影响

取35 mL煎酒后黄酒置于50 mL配硅胶塞的透明三角瓶中,分别置于光亮(自然光)和避光处陈化。

#### 1.7 数据采集及处理

以褐变度( $A_{420}$ )表征黄酒的陈化状态。样品静置一周,使样品中的大分子沉淀,酒体相对稳定,记为检测零点。每隔7 d测定一次褐变度 $A_{420}$ ,测定7次。绘制并比较各样品褐变度随时间的变化

曲线,并采用SAS 9.1对其进行方差分析和Tukey's HSD多重比较。方差分析时, $P<0.05$ 为显著, $P<0.01$ 为极显著。记录多重比较的结果时,含相同字母表示差异性不显著,显著水平 $\alpha=0.05$ 用小写字母记录,极显著水平 $\alpha=0.01$ 用大写字母记录。

## 2 结果与分析

### 2.1 生物因素对黄酒褐变的影响

#### 2.1.1 黄酒中酶活力的测定

按既定方法测定了压酒、煎酒处理对糯米酒中糖化酶、蛋白酶和多酚氧化酶活力的影响(见表1)。

表1 不同处理对黄酒中酶活力的影响

Table 1 Effect of different treatment on enzymatic

activity in Chinese rice wine			U/mL
酶活力	原米酒	压酒后	煎酒后
蛋白酶	6.29	3.67	ND
糖化酶	35.37	15.36	ND
PPO	3.33	ND	ND

注:ND表示未检出。

由表1可知,压酒处理会使几种酶的活力大幅度下降,而煎酒处理后酶基本全部失活。原因可能是压酒处理使黄酒的酒精度升高,引起部分酶变性失活,而煎酒会使酶蛋白结构改变,导致酶失活。

#### 2.1.2 黄酒中微生物总数的测定

不同处理对糯米黄酒中微生物菌落数的影响如图1所示。未处理的原米酒样品中存在丰富的微生物(约 $1.6\times 10^6$  CFU/mL),压酒处理使原酒的酒精度升高,导致部分微生物死亡,测定的菌落总数明显减少(约 $3.1\times 10^4$  CFU/mL),煎酒基本杀死了所有的微生物,所以陈化黄酒中微生物未检出。

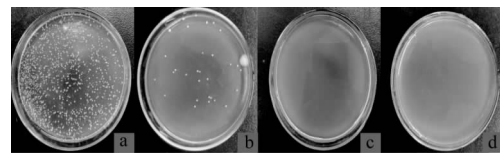


图1 不同处理对糯米黄酒中微生物菌落数的影响  
Fig.1 Effect of different treatment on microbial colony count in Chinese rice wine

注:a,b,c,d分别为未处理原酒样品、压酒样品、煎酒样品和空白对照的 $10^{-3}$ 稀释度的平板计数结果。

### 2.1.3 压酒及煎酒处理对黄酒褐变的影响

压酒及煎酒处理对糯米黄酒褐变的影响如图 2 所示。通过 SAS 9.1 方差分析可知,煎酒处理对糯米黄酒褐变陈化的影响极显著 ( $P=0.0006$ )。表 2 显示了压酒及煎酒处理对糯米黄酒陈化影响的多重比较(Tukey's HSD)结果,可知:对糯米黄酒,未处理原酒与压酒后煎酒处理组的差异性均显著 ( $P<0.05$ ),压酒后煎酒处理组与只进行压酒操作的处理组之间的差异性极显著( $P<0.01$ )。

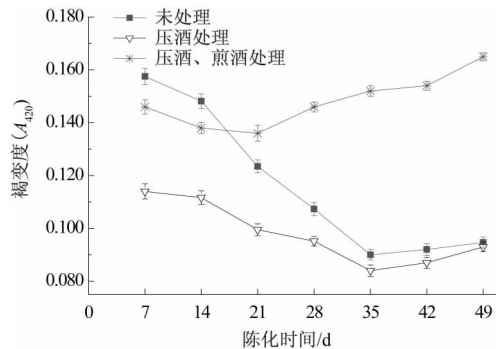


图 2 压酒及煎酒操作对糯米黄酒褐变的影响  
Fig.2 Effect of increasing alcohol content and boiling on browning of Chinese rice wine

表 2 压酒及煎酒处理对黄酒褐变度影响的多重比较

Table 2 Multiple comparison of effect of increasing alcohol content and boiling wine on browning of Chinese rice wine

处理方法	平均数	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
压酒后煎酒	0.148	a	A
未处理原酒	0.116	b	AB
压酒	0.098	b	B

由于原酒酒质不稳定,其中大分子物质的沉降会导致褐变度的持续降低;原米酒经过压酒及煎酒处理会对其褐变程度造成显著影响。煎酒处理使黄酒中的蛋白质等大分子加速凝集沉淀,同时使微生物、酶等失活,促进了酒体的稳定,降低了生物因素对糖类物质的分解和对部分有色物质的利用<sup>[9]</sup>,使褐变反应底物相对增多,从而加快褐变速度;另外煎酒过程的热处理也加速了美拉德反应。压酒也可以引起部分大分子物质沉淀,抑制部分微生物、酶等,能在一定程度加速褐变,但其褐变速度低于煎酒处理组。总之,与原米酒相比,压酒和煎酒操作会对黄酒褐变产生显著影响,经过压酒和煎酒操作后,黄酒中的酶和微生物等生物因素活性丧失,所以生物因素对黄酒后续的陈化不会产生显著影响。

## 2.2 化学因素对黄酒褐变的影响

### 2.2.1 氧气对黄酒褐变的影响

陶坛的特定结构赋予了黄酒独特的微氧环境,所以将其作为一个特殊的供氧水平来进行比较。不同通气量对糯米黄酒褐变的影响如图 3 所示。通过 SAS 9.1 方差分析可知,通气量对糯米黄酒的褐变有极显著影响( $P<0.01$ )。

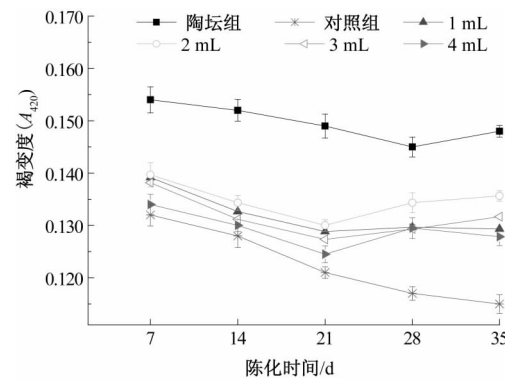


图 3 通气量对糯米黄酒褐变的影响

Fig.3 Effect of aeration on browning of Chinese rice wine

表 3 显示了不同通气量糯米黄酒的褐变度多重比较(Tukey's HSD)结果,可知陶坛组、人工供氧组(无菌空气)(1、2、3、4 mL/100 mL)与对照组(0 mL/100 mL)3 组之间的差异性均极显著 ( $P<0.01$ )。所以,通气对糯米黄酒陈化有极显著影响,陶坛微氧环境最利于糯米黄酒的陈化,人工供氧也以 2 mL/100 mL 为最佳。由此分析,空气中的氧气对糯米黄酒陈化影响极显著,可能由于氧气是多酚氧化褐变的重要参与者,可在一定程度上影响多酚氧化褐变的速度<sup>[10-11]</sup>。

表 3 不同通气量糯米黄酒褐变度的多重比较

Table 3 Multiple comparison of effect of aeration on browning of Chinese rice wine

供氧量/(mL·(100 mL) <sup>-1</sup> )	平均数	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
陶坛微氧	0.150	a	A
2	0.135	b	B
1	0.132	bc	B
3	0.132	bc	B
4	0.129	c	B
0	0.123	d	C

### 2.2.2 pH 对黄酒褐变的影响

不同 pH 对糯米黄酒褐变的影响如图 4 所示,通过 SAS 9.1 方差分析可知,pH 对糯米黄酒褐变的影响极显著( $P<0.01$ )。表 4 显示了不同 pH 糯米

黄酒的褐变度多重比较(Tukey's HSD)结果,可知 pH 3.8、4.1 及 4.4 相互之间的差异性不显著,但三者与 pH 4.6 之间的差异性均极显著,pH 4.6 黄酒的褐变速度明显小于其他组,说明 pH 偏高会抑制糯米黄酒的褐变速度。

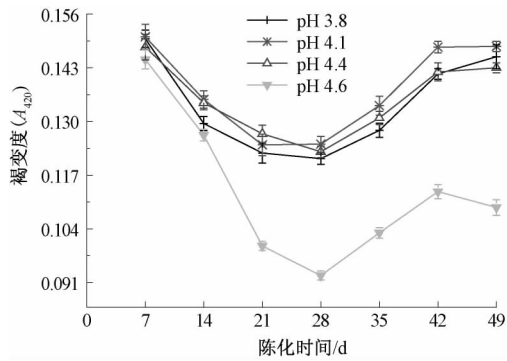


图 4 pH 对糯米黄酒褐变的影响

Fig.4 Effect of pH on browning of Chinese rice wine

表 4 不同 pH 黄酒褐变度的多重比较

Table 4 Multiple comparison of effect of pH on browning of Chinese rice wine

pH	平均数	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
4.1	0.138	a	A
4.4	0.135	a	A
3.8	0.134	a	A
4.6	0.113	b	B

### 2.3 物理因素对黄酒褐变的影响

#### 2.3.1 温度对黄酒褐变的影响

温度对糯米黄酒褐变度的影响如图 5 所示,通过 SAS 9.1 方差分析可知,温度对糯米黄酒褐变的影响极显著( $P=0.0036$ )。

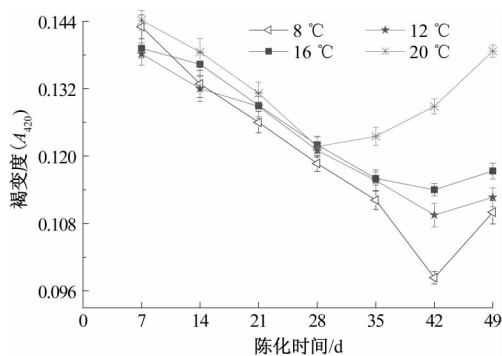


图 5 温度对糯米黄酒褐变的影响

Fig.5 Effect of temperature on browning of Chinese rice wine

表 5 显示了不同温度糯米黄酒的褐变度多重比较(Tukey's HSD)结果,可知:20 °C 与 8 °C 之间差异性极显著,20 °C 与 12 °C 之间差异性显著。其余温度相互之间的差异性不显著。所以,适当提高温度对糯米黄酒的陈化有极显著影响,随着温度升高,美拉德等褐变反应速度加快。另外,陈化开始时由于原酒酒质不稳定,大分子物质的沉降会导致褐变度的持续降低,当大分子物质的沉降运动基本稳定,褐变度会随陈化温度的升高和时间的延长而逐渐升高。总之,黄酒褐变受温度和时间的影响均较大,由于温度差异引起的褐变度差异会随陈化时间的延长而逐渐增大,而相同的陈化时间下,适当的升高温度有利于黄酒的陈化褐变,即适当地提高温度可以加速黄酒陈化褐变。

表 5 不同温度黄酒褐变度的多重比较

Table 5 Multiple comparison of effect of temperature on browning of Chinese rice wine

温度/°C	平均数	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
20	0.132	a	A
16	0.125	ab	AB
12	0.123	b	AB
8	0.120	b	B

#### 2.3.2 光照对黄酒褐变的影响

光照对糯米黄酒褐变度的影响如图 6 所示,通过 SAS 9.1 方差分析可知,光照对糯米黄酒的影响极显著( $P=0.0046$ )。表 6 显示了不同光照处理糯米黄酒褐变度多重比较(Tukey's HSD)结果。自然光照与避光处理之间的差异性极显著,原因可能在于光照为多酚的氧化聚合提供能量,加速了褐变反应,此结论与肖诗明等<sup>[12]</sup>的研究结果相一致。所以,光照是糯米黄酒的显著影响因素,适当的光照会显著促进黄酒褐变。

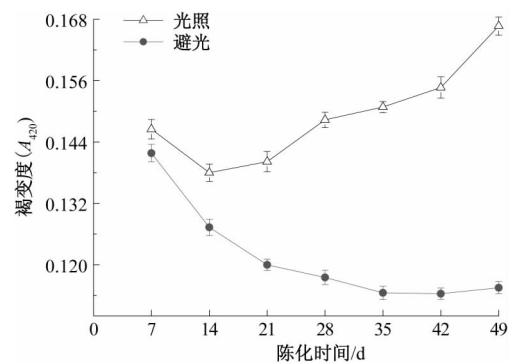


图 6 光照对糯米黄酒褐变的影响

Fig.6 Effect of light on browning of Chinese rice wine

表 6 光照对黄酒褐变度影响的多重比较  
Table 6 Multiple comparison of effect of light on  
browning of Chinese rice wine

光处理	平均数	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
自然光照	0.149	a	A
黑暗(避光)	0.122	b	B

### 3 结论

综上所述,生物因素对初酿黄酒的陈化不会产生显著影响;化学因素中氧气对黄酒陈化的影响极显著,陶坛独特的微氧环境对黄酒褐变陈化的影响最大,采用人工供氧时以 2 mL/100 mL 为适宜;黄酒陈化过程中的 pH 一般维持在 3.8~4.6,在此范围内,pH 对糯米黄酒褐变的影响极显著,但过高的 pH 会抑制糯米黄酒的褐变速度;物理因素中温度和光照对糯米黄酒褐变的影响极显著,适当提高温度和光照,均可以显著促进褐变。上述研究为进一步揭示黄酒褐变机制和更好地控制陈化过程提供了理论参考,但黄酒的陈化过程十分复杂,褐变影响因子众多,故黄酒褐变陈化的机制还有待更加深入的探究。

#### 参考文献:

- [1] 尚小利. 黍米黄酒酿造新技术及功能成分研究[D]. 郑州:河南工业大学,2012.
- [2] 沈丽尧,冷云伟,叶辉. 黄酒的老熟机理与催陈因子的选择[J]. 中国酿造,2011(6):179-181.
- [3] 沈丽尧,冷云伟,叶辉. 干型黄酒贮存过程中颜色和香气成分的变化[J]. 酿酒科技,2011(1):58-60.
- [4] 吕梦莎,曾永青,黄雪松. 反应条件对美拉德反应模拟体系中的  $\alpha$ -二羰基化合物的影响[J]. 食品科学,2013,34(24):50-56.
- [5] 张莎莎,景浩. 不同温度对木糖-甘氨酸美拉德反应特征性颜色的影响[J]. 食品科技,2014,39(1):250-254.
- [6] 孟岳成,何珊珊,李延华,等. 不同加热条件下牛乳美拉德反应程度的研究[J]. 现代食品科技,2015,31(1):158-165.
- [7] 杨国军. 黄酒的陈化[J]. 酿酒科技,2006(6):74-76.
- [8] 侯杰. 木薯叶多酚氧化酶的分离纯化及其应用[D]. 南宁:广西大学,2014.
- [9] 郝笑云,王宏,张军翔. 酚类物质对红葡萄酒颜色影响的研究进展[J]. 现代食品科技,2013,29(5):1192-1197.
- [10] WATERHOUSE A L, LAURIE V F. Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2006, 57(3):306-313.
- [11] 李华,王华,袁春龙. 葡萄酒化学[M]. 北京:科学出版社,2005.
- [12] 肖诗明,张忠,陈明. 石榴果汁褐变规律的初探[J]. 西昌学院学报(自然科学版),2006,20(3):16-32.

## THE INFLUENCE FACTORS OF BROWNING DURING CHINESE RICE WINE AGING

HUI Ming<sup>1</sup>, QIU Cong<sup>1</sup>, ZHANG Huijuan<sup>1,2</sup>, TIAN Qing<sup>1</sup>

(1. School of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;

2. China Grain Reserves Chongqing Depot Co. Ltd., Chongqing 400070, China)

**Abstract:** Color is an important quality indicator of Chinese rice wine. In order to further reveal the browning mechanism of Chinese rice wine and then provide theory basis for aging process control, the biological (enzymes and microorganisms), chemical ( $O_2$  and pH) and physical factors (light and temperature) which may affect browning of Chinese rice wine were discussed, and the key factors that had significant effect on browning of Chinese rice wine were investigated by the variance analysis and Tukey's HSD comparison. The results showed that there were abundant enzymes and microbes in the new brewed wine, and the operation of increasing alcohol content and boiling had significant effect on browning of rice wine. But the enzyme and the microbes, would be

(下转第 32 页)

When drying temperature was 50 °C and 60 °C, the content of damaged starch was significantly higher than that of other drying temperature. The effect of different milling conditions on gelatinization properties had significant difference. Correlations analysis showed that significant correlation existed in milling conditions, damaged starch and gelatinization properties. The results showed that the soaking time was significantly correlated with the peak viscosity, the trough viscosity, the decay value, the final viscosity and the regenerated value ( $r=0.660$ ;  $r=0.587$ ;  $r=0.650$ ;  $r=0.564$ ;  $r=-0.587$ ). The soaking solution had a significant correlation with the viscosity, the final viscosity, the peak time and gelatinization temperature ( $r=0.418$ ;  $r=0.446$ ;  $r=0.615$ ;  $r=0.683$ ). And the grinding times also had a significant correlation with the damaged starch content ( $r=0.646$ ). It was concluded that the better quality of glutinous rice flour was afforded with the conditions of water soaking for 120 min at 40~45 °C, grinding for 1~2 times and drying at 40 °C or 80 °C.

**Key words:** glutinous rice flour; wet-milling process; damaged starch; gelatinization properties

---

(上接第 20 页)

inactivated after alcohol and boiling treatment, which made the biological factors had no effect on the subsequent browning of the rice wine. The effect of O<sub>2</sub> on the browning of Chinese rice wine was very significant. The micro-aerobic condition made by pottery jar was favorable for the browning of the wine, and 2 mL/100 mL was appropriate when the sterile air was used. The pH in the aging process of Chinese rice wine generally maintained at 3.8~4.6, in which the pH had significant effect on the browning of glutinous rice wine, and higher pH would inhibit the browning reaction of rice wine. In the physical factors, the temperature had significant effect on the browning of rice wine, and the proper increasing of the temperature could accelerate the browning reaction such as Maillard reaction. Light which could provide energy for oxidative polymerization of polyphenols to accelerate the browning of rice wine also had significant effect on the browning of rice wine.

**Key words:** Chinese rice wine; browning; influence factors; significant test; multiple comparison