



客户文章分享

气相色谱

作者:

江伟
孙志伟
刘伟成
中国食品发酵工业研究院

刘敬忠
李桂玲
任广鹏
山东新银麦啤酒有限公司

顶空固相微萃取-气相色谱-氢火焰离子化法检测啤酒中的酒花香气成分

摘要

来自酒花的微量香气成分会影响啤酒的感官评价和质量。为评价酒花香气对啤酒的影响，本文采用顶空固相微萃取(HS-SPME)对啤酒前处理后，使用常见且低成本维护的气相色谱-氢火焰离子化法(GC-FID)进行定性定量。以 2-壬醇为内标，测定出里那醇、乙酸香茅酯、 α -萜品醇、 β -香茅醇、香叶醇 5 种酒花香气成分。此法的精密度为 4.69%~13.41%，回收率为 74.95%~106.09%，检出限为 0.005~0.028 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。通过此法进行啤酒检测，结果显示：啤酒中这 5 种酒花香气含量均 $<10\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，大部分在 0.10~5.00 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间。研究表明：该法测定准确可靠；与已有方法如顶空固相微萃取-气质联用法(HS-SPME-GC-MS)相比，该法的仪器常见，维护成本更低，更适合酒厂的普遍推广。

酒花是啤酒中的重要原料，在啤酒酿造过程中，酒花主要向啤酒提供特殊的苦味和香气，同时还具有防腐和澄清麦汁的能力。酒花赋予啤酒特有的风味，影响着啤酒的感官性能和质量[1]，进而影响消费者对啤酒品牌的选择[2]，因此分析和了解啤酒中的酒花香气成分成为必要。

啤酒中的酒花香气主要来源于原料本身及其在发酵过程中代谢和陈酿所产生的化合物[2]，其成分复杂，它们包括碳氢化合物、萜类化合物、醛类、酮类、酯类、醇类、酸类、硫化物等。其中，部分萜类化合物仅来源于酒花，这便成为酒花香气研究者的关注焦点[3]。而酒花香气含量微小，因此，其香气成分的检测成为啤酒业界的关键。

江伟¹，孙志伟¹，刘伟成^{1*}，刘敬忠²，李桂玲²，任广鹏²
(1. 中国食品发酵工业研究院 酿酒工程技术研究发展部，北京 100027；2. 山东新银麦啤酒有限公司，山东 蒙阴 276200；)

在监控和定量啤酒中的酒花香气成分上, GC-MS 和 GC-FID 已经成为必不可少的工具。在国外, 啤酒中的香气成分研究得更为深入。早在 1978 年, Tressel 使用 GC-MS 鉴定出德国啤酒中超过 110 种的酒花香气[4]; Jeleń 等人使用 SPME 和静态顶空的两种前处理方法结合 GC-FID 比较分析了啤酒中的醇和酯[5]; 而很多研究者使用 GC-MS 和 GC-FID 比较分析添加酒花和未添加酒花的啤酒之间的差别来确定啤酒的酒花香气[6, 7], 如 Guillaume 等人使用 GC-0 鉴定啤酒中的香气成分[6]。Ng 综述了使用 GC-MS 分析啤酒中的脂肪酸和酯类[8]; 在日本, Kishimoto 等人采用搅拌棒吸附萃取的固相微萃取技术结合 GC-MS 定量出萜类化合物[3], 次年, 他又使用 GC-0 分析鉴定出 27 种来源于酒花的香气组分[7]; Kaltner 等人使用 GC-MS 跟踪了啤酒生产和老化过程中酒花香气成分的变化情况[9]。

然而在国内, 啤酒中酒花香气成分的分析定量较少, 如胡国栋等人采用顶空固相微萃取, 结合 GC-MS 分析鉴定了啤酒中的微量香味组分[10, 11]; 王憬等人采用 HS-SPME 结合 GC-MS 分析了啤酒中的酒花香气[12]。从国内酒厂的实际情况来看, GC-MS 无论从购买还是从维护上, 都比较昂贵, 只有部分经济实力雄厚的大酒厂能够使用, 而 GC-FID 使用较为普遍, 因此使用 GC-FID 开发啤酒中酒花香气并加以推广符合我国酒厂的实情。

为了推广啤酒中酒花香气成分的鉴定, 本文采用顶空固相微萃取作为前处理方法, 利用 GC-FID 初步探索定量出 5 种酒花香气成分, 包括里那醇、乙酸香茅酯、 α -萜品醇、 β -香茅醇、香叶醇。结果显示, 其精密密度为 4.69%~13.41%, 回收率为 74.95%~106.09%, 检出限为 0.005~0.028 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。该法重复性好, 方法简便, 测定准确, 使用经济, 适合各酒厂的普遍推广, 为中小酒厂酒花香气的评价和啤酒质量的控制奠定了良好的技术基础。

1 材料与试剂

1.1 实验器材

气相色谱, 配有氢火焰离子化检测器(FID)(PerkinElmer, 美国);

毛细管色谱柱: CP-Wax 57 CB
50m \times 0.25mm \times 0.2 μm (PerkinElmer, 美国);

万分之一天平(岛津, 日本);

固相微萃取装置配 SPME 手柄(Supelco, 美国);

85 μmPA 萃取头(Supelco, 美国)

1.2 试剂

NaCl, 分析纯

无水乙醇, 色谱纯

内标物: 2-壬醇($\geq 97\%$, Fluka 公司)

标准试剂: 里那醇(97%, Aldrich 公司);

乙酸香茅酯(97%, Acros 公司); α -萜品醇(90%, Aldrich 公司); β -香茅醇($\geq 99\%$, Fluka 公司); 香叶醇(98%, Aldrich 公司)。

标准储备液的配制: 移取 5 种标准试剂各 5 μL 至 50mL 的容量瓶中, 用天平逐一称量, 最后用 100%无水乙醇定容。配制的浓度分别为: 里那醇, 114mg/L; 乙酸香茅酯, 228 mg/L; α -萜品醇, 170 mg/L; β -香茅醇, 112 mg/L; 香叶醇, 226 mg/L, 低温避光处保存。标准使用液经储备液逐步稀释配置而成, 保证使用液的乙醇含量为 5%(体积比)。

内标的配制: 移取 10 μL 的 2-壬醇至 100mL 容量瓶中, 用 100%无水乙醇定容, 即配制成 100 mg/L 的内标储备液, 低温避光处保存。内标使用液经逐步稀释成 2mg/L 现用

2 实验条件

2.1 色谱条件

柱温程序：起始温度 50℃，以 8℃/min 程序升温至 120℃，以 3℃/min 程序升温至 170℃，以 10℃/min 程序升温至 210℃，恒温 5min。

载气(高纯氮)：流速 1mL/min，不分流进样；
氢气：流速为 45mL/min；
空气：流速为 450 mL/min；
检测器温度：260℃；
进样器温度：240℃；

3 啤酒样品的前处理

称取 3gNaCl 于 20mL 的顶空瓶中，加入 5mL 啤酒，50 μ L 的 2mg/L 2-壬醇，放入磁力搅拌转，加盖密封垫和铝盖密封。将 SPME 针管穿透样品瓶隔垫，伸入瓶中，推手柄使纤维头伸出针管，纤维头置于距离样品表面约 20mm 的上部空间，在 45℃的水浴温度下，搅拌 30min，取出手柄，直接进样，解析 3min。

4 结果与讨论

4.1 标准曲线的建立

用标准储备液逐步稀释，分别配制成 5 个不同梯度的标准溶液，五种物质的浓度范围在 0~45 μ g·L⁻¹。

将各个标准液按照啤酒的前处理方法进行固相萃取富集，然后直接进行 GC-FID 分析。定量方法为内标法，即根据各个化合物和内标(2-壬醇)的浓度和峰面积(或峰高)，通过比值计算而来。其线性回归方程为见表 1。

4.2 精密度分析

为了确保实验的重复性和稳定性，本文按照 3 对同一啤酒连续测定了 5 次，结果见表 2。由表可见，里那醇和香茅醇的重复性最好，二者测定的浓度在 1 μ g·L⁻¹ 左右，但相对标准偏差分别仅为 4.69%和 4.52%，可见二者检测结果的精确性；醇类中偏差最大的是 α -萜品醇，这是由于 α -萜品醇的平均浓度很低，仅为 0.24 μ g·L⁻¹ 的缘故。而酯类的偏差最大，在平均浓度较高(2.34 μ g·L⁻¹)的情况下，相对标准偏差高达 13.41%，这可能与以醇类作为内标定量所致。

4.3 回收率测定

啤酒加标样的准备：取一啤酒样品，称取 3gNaCl 于 20mL 的顶空瓶中，移取 5mL 啤酒，加入 50 μ L 的 2mg/L 2-壬醇和 0.1mL 稀释 1000 倍的标准储备液混匀，此样为啤酒加标样。

测定啤酒样品和啤酒加标样，计算回收率，结果见表 3。由表可知，乙酸香茅酯的回收率最低，仅为 72.95%，这也可能与以醇类作为内标定量所致。

4.4 检出限的计算

为了衡量此法对化合物的灵敏度，在没有啤酒基质存在的条件下，在与样品测定完全相同的条件下，测定了一个低浓度标准溶液，计算噪音。通常定义检出限为噪音的 3 倍(S/N=3)。检出限的结果见表 3。与前人使用的 HS-SPME-GC-MS 法[3, 11, 12]相比，检出限相对较高，但本法的检出限已经完全足够检测出啤酒中的上述 5 种酒花香气物。

4.5 样品的测定

应用本法测定了 6 种不同品牌的啤酒样品, 结果见表 4。结果显示: 不同品牌的啤酒中酒花香气组分含量存在着不同程度的差别, 其含量大部分都小于 $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 这与不同酒厂的啤酒酒花品种和啤酒工艺存在着很大的关系。

5 结论

通过建立 HS-SPME-GC-FID 方法, 分析测定了啤酒中 5 种酒花香气成分, 包括里那醇、乙酸香茅酯、 α -萜品醇、 β -香茅醇、香叶醇。研究表明: (1) 此法方法简单, 易操作且准确可靠; (2) 相较于 GC-MS, GC-FID 仪器购买和维护成本低, 一般酒厂都配备, 适合酒厂的普遍推广; (3) 通过对不同品牌啤酒进行检测, 发现不同啤酒中的酒花香气成分存在着不同的差别, 这为进一步深入改进啤酒口感、寻找更好的酒花品种、研究酒花在啤酒中的变化情况奠定了基础。

5. 参考文献:

[1] 李红, 王云川, 张五九等. 酒花油的 HS-GC / MS 分析研究 [J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(10): 52-58.

[2] 彭帮柱, 岳田利, 袁亚宏. 固相微萃取技术及其在酒类风味成分分析上的应用 [J]. 食品科学, 2006, 27(8): 266-270.

[3] Kishimoto T, Wanikawa A, Kagami N. et al. Analysis of hop-derived terpenoids in beer and evaluation of their behavior using the stir bar-sorptive extraction method with GC-MS [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(12): 4701-4707.

[4] Tressl R, Friese L, Fendesack F et al. Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Investigation of Hop Aroma Constituents in Beer [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978, 26(6): 1422-1426.

[5] Jelen H H, Wlazly K, Wasowicz E et al. Solid-Phase Microextraction for the Analysis of Some Alcohols and Esters in Beer: Comparison with Static Headspace Method [J]. 1998, 46(4): 1469-1473.

[6] Lermusieau G, Bulens M, Collin S. Use of GC-olfactometry to identify the hop aromatic compounds in beer [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(8): 3867-3874.

[7] Kishimoto T, Wanikawa A, Kono K et al. Comparison of the Odor-Active Compounds in Unhopped Beer and Beers Hopped with Different Hop Varieties [J]. 2006, 54(23): 8855-8861.

[8] Ng L-K. Analysis by gas chromatography/mass spectrometry of fatty acids and esters in alcoholic beverages and tobaccos [J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 465(1-2): 309-318.

[9] Kaltner D, Mitter W (2007). Changes in hop derived compounds during beer production and ageing. In 1st International Brewers Symposium on Hop Flavour and Aroma (Oregon, USA).

[10] 胡国栋. 顶空固相微萃取技术及其在啤酒香味研究中的应用 [J]. 啤酒科技, 2004, (9): 12-15.

[11] 胡国栋, 张晓磊. 顶空固相微萃取-气相色谱/质谱分析啤酒微量香味组分的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2004, (2): -.

[12] 王憬, 崔巍伟, 王莉娜等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法分析啤酒的酒花香组分 [J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(8): 127-131.

表 1 目标化合物的线性回归方程

物质	线性回归方程	相关系数 r
里那醇	$y=0.064813x$	0.9974
乙酸香茅酯	$y=0.004004x$	0.9513
α -萜品醇	$y=0.025114x$	0.9937
β -香茅醇	$y=0.048882x$	0.9918
香叶醇	$y=0.030139x$	0.9953

表 2 目标化合物的精密度分析结果 (n=5) 单位: $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

物质	里那醇	乙酸香茅酯	α -萜品醇	β -香茅醇	香叶醇
1	0.82	2.23	0.29	1.49	2.22
2	0.80	1.90	0.25	1.33	2.38
3	0.80	2.27	0.22	1.45	2.76
4	0.89	2.64	0.22	1.36	2.59
5	0.82	2.64	0.23	1.42	2.43
平均值	0.83	2.34	0.24	1.41	2.48
标准偏差(<i>S. D</i>)	0.04	0.31	0.03	0.07	0.21
相对标准偏差 (<i>R.S.D/%</i>)	4.69	13.41	12.28	4.52	8.38

表 3 目标化合物的回收率和检出限

物质	回收率(%)	检出限($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
里那醇	81.79	0.020
乙酸香茅酯	74.95	0.028
α -萜品醇	76.54	0.022
β -香茅醇	83.90	0.005
香叶醇	106.09	0.020

表 4 不同啤酒的香气成分检测结果 单位: $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

物质	1	2	3	4	5	6
里那醇	1.57	3.53	1.43	0.71	1.34	1.81
乙酸香茅酯	3.63	3.58	4.06	2.85	4.96	3.53
α -萜品醇	0.86	1.59	0.52	0.40	0.42	0.84
β -香茅醇	1.50	2.30	0.45	0.84	1.74	1.27
香叶醇	4.10	5.60	6.52	3.09	3.88	4.83

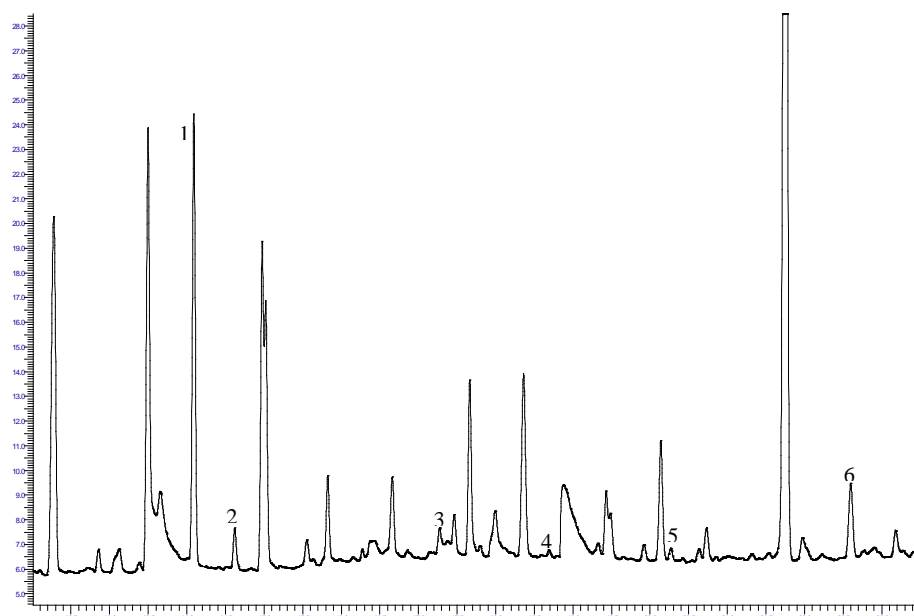


图 1 啤酒样品谱图 (GC-FID)

备注: 1. 2-壬醇; 2. 里那醇; 3. 乙酸香茅酯; 4. α -萜品醇; 5. β -香茅醇; 6-香叶醇

PerkinElmer, Inc.

大中华区总部

地址: 上海张江高科园区李冰路67弄4号

邮编: 201203

电话: (021) 3876 9510

传真: (021) 387 91316

www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表, 请访问 www.perkinelmer.com.cn/ContactUs

©2009 PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer徽标和外观设计是PerkinElmer的注册商标。文中提及的其它非PerkinElmer及其子公司所有的其它商标均为其各自所有者的财产。PerkinElmer保留随时更改此文档的权利, 恕不另行通知。对于编辑、图片或排版错误概不承担任何责任。