

顶空进样结合气相色谱分析技术在啤酒生产过程中的应用

珀金埃尔默公司 北京代表处 祝立群



前言

近期，国内有关啤酒中甲醛含量超标的话题炒作的沸沸扬扬，最终以国家质检部门发布检测报告说明国内啤酒中甲醛含量符合国家质量标准而告一段落，但啤酒生产过程中的质量控制问题却作为一个非常现实的问题摆在啤酒生产商的面前。啤酒中有许多化合物和风味组分可以直接反映啤酒出的质量状况，通过检测这些化合物在生产过程中的变化，可以做好啤酒生产过程中的质量控制，确定发生在酿造或发酵过程中影响最终啤酒产品味觉或质量的问题或变化，最终实现对啤酒消费者的责任。本文介绍了当今世界广泛使用的啤酒质量控制分析的技术——顶空进样与气相色谱分析技术及其对啤酒酿造过程各种化合物分析的特点。

表一 四种在啤酒酿造过程中使用 HS-GC 法分析的典型组分

1	联二酮(VDK)	2,3- 丁二酮 (双乙酰) 2,3- 戊二酮
2	乙醛	乙醛
3	卤代烃	二溴氯丙烷 溴仿 氯仿 二氯二溴甲烷
4	硫化物	DMS (二甲基硫化物) 二氧化硫 硫化氢

四种在啤酒酿造过程中使用 HS-GC 法分析的典型组分见表一。第一类化合物，也是最重要的一类，是监控啤酒中的联二酮含量，包括双乙酰和 2, 3- 戊二酮。因为联二酮会影响啤酒的口感，在啤酒质量控制中联二酮含量是极其重要的。这些化合物会产生一种类似于黄油的味道，而且认为含量过高对啤酒质量并无益处。许多浓色啤酒，例如欧洲啤酒，联二酮含量比美国的一些典型的淡色啤酒高，但是它们仍然保持了良好的风味，淡色啤酒中联二酮含量典型值是 1-50 个 ppb，而在黑啤酒中联二酮含量可以达到几百个 ppb。

在酿造过程中使用 HS-GC 法监控的另一种组分是乙醛。在二次发酵中乙醛会在酵母作用下变成乙醇，而成品啤酒的氧化会逆反这个过程，把乙醇又转化为乙醛。乙醛还可能是被 *Zymomonas* 或 *Acetobacter* 引起的细菌腐坏的产物。另外，在乙醛还原成乙醇之前，使用山毛榉树木片点滴发酵的啤酒中，其原有的微量乙醛可以被品尝出来。和青草味、绿叶味和乳胶漆味比起来，乙醛有鲜切绿苹果的味道和香味。乙醛在啤酒中的典型含量值是 1-20 个 ppm。

第三种在酿造过程中使用 HS-GC 法监控的组分是卤代烃。这些组分是有害的，它们进入啤酒的途径通常是由于市政供水，市政供水经常使用氯气来进行消毒处理，导致产生了多种氯化碳氢化合物消毒副产物。典型的卤代烃质控检测是在酿造水检测中使用，而不是在啤酒最终产品取大量样品来检测。在卤代烃检测中氯仿是最重要的检测组分。

第四种在酿造过程中使用HS-GC法监控的组分是啤酒中的硫化物。DMS（二甲基硫化物）、二氧化硫（SO₂）、硫化氢（HS）是监控的主要对象。DMS有甜玉米的味道和香味。它们可能来源于麦芽，由于麦芽汁煮沸时间短或不够，和麦芽汁冷却慢的原因或者是由于细菌感染。因为一些酵母可以产生明显的不同级别的硫化氢。硫化氢是酵母特性性能的指示剂。二氧化硫经常作为防腐剂出现。当啤酒中硫含量极低时，它们的存在是可接受的，但当它们含量高于几十 ppb 时就会发出一种难闻的味道和气味（例如：臭鸡蛋味）。

尽管这四种质控测试通常都是独立进行的。一些啤酒厂商可能会由于时间和样品采样量的缘故把两项测试合并到一起做。例如：联二酮测试也可以用来测试氯仿是否存在，乙醛的测试也可以用来鉴别硫化物组分。

实验部分

所有分析实验都使用一台 PerkinElmer TurboMatrix 自动顶空进样器和一台 Clarus 500 气相色谱仪完成。Clarus 500 气相色谱仪由氢火焰检测器(FID)和电子捕获检测器(ECD)组成。



啤酒样品在做顶空分析之前需要脱气。啤酒样品的完全脱气是很重要的，这个过程可防止在顶空加热过程中样品中溶解的CO₂影响样品瓶中压力，同时将色谱分析中因CO₂出峰产生的色谱图的基线干扰减至最小。振荡摇动并消除容器中的泡沫是除去样品中CO₂的一种方法，但是使用过滤或超声波则使操作更容易有效。

把啤酒放入宽口杯然后进行短暂的超声波振荡（只需要5-15秒）样品就准备好了。推荐使用一个比啤酒样品量至少大十倍的宽口杯来进行试验（注意：直接在啤酒瓶中超声

波振荡啤酒会引起瞬间的啤酒泡沫喷泉，喷射高度可达到10-24英寸）。排气之后，将5-10ML啤酒样品放入顶空小瓶（PerkinElmer 部件编号 B0104236）然后用聚四氟乙烯丁基合成橡胶隔片密封（PerkinElmer 部件编号 B0159356）。

实验结果

实验一：联二酮（双乙酰和 2,3- 戊二酮）测定

使用ECD可以满足所需的1-50个ppb的检出限要求。用于联二酮的分析的色谱柱是 PE Elite-5, 60m × 0.53mm × 1.5μm (PerkinElmer 部件编号 N9316103)。HS-GC 实验条件见表 2 和表 3。典型的联二酮色谱图见图 1。

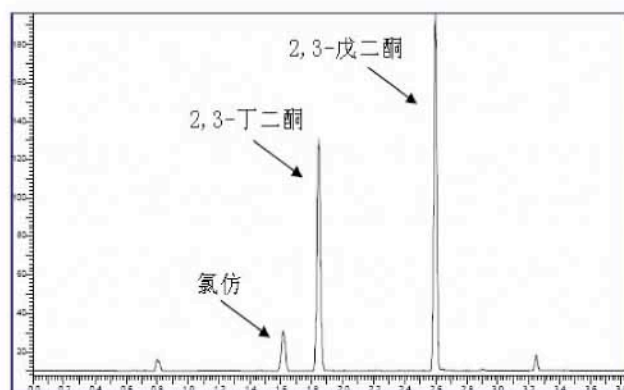


图 1 10ppb 联二酮检测结果 (ECD)

表二 顶空条件

Sample Temperature	60°C
Needle Temperature	80°C
Transfer Line Temperature	100°C
Equilibration Time	15 min
Pressurization Time	1.0 min
Injection Time	0.1 min
Withdrawal Time	0.0 min
Carrier Pressure	35 psi

表三 气相色谱 ECD 条件

Initial Temperature	45°C
Time 1	1.3 min
Rate 1	40 °C/min
Final Temperature	150 °C
Hold	0.6 min
Injector Temperature	100 °C
Liner	Zero Dilution
Split	25 mL/minECD
150 °C	ECD Attenuation1
Makeup Gas (Argon/Methane)	30 mL/min

实验二：乙醛的测定

使用 FID 检测器可满足乙醛检测含量范围 (1 – 20 个 ppm) 的需要。乙醛检测所用色谱柱的是 PE Elite BAC-1, 30m × 0.32mm × 1.8μm (PerkinElmer 部件编号 N9316103)。HS-GC 实验条件见表 4 和表 5。典型的乙醛色谱图见图 3，图中还显示了 2-propanol (是这个检测的内部标准)。注意：二甲基硫化物在图中标出，用以检测样品中的硫组分。

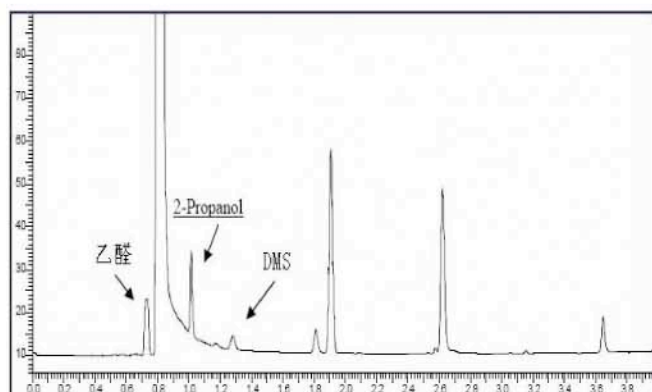


图 3 10ppm 乙醛检测结果 (FID)

表四 顶空条件

Sample Temperature	60°C
Needle Temperature	80°C
Transfer Line Temperature	100°C
Equilibration Time	15 min
Pressurization Time	1.0 min
Injection Time	0.1 min
Withdrawal Time	0.0 min
Carrier Pressure	35 psi

表五 气相色谱 FID 条件

Initial Temperature	45°C
Time 1	1.3 min
Rate 1	40 °C/min
Final Temperature	150 °C
Hold	0.6 min
Injector Temperature	100 °C
Liner	Zero Dilution
Split	25 mL/min
FID	150 °C

实验三：卤代烃测定

使用 ECD 可达到卤代烃所需的低 ppb 的检出限。卤代烃是由制造啤酒的酿造水引入的。卤代烃测试可以用在酿造水、过程水和啤酒本身。为了检测四种卤代烃 (氯仿、二氯二溴甲烷、溴仿、二溴氯丙烷)，需要编制一个程序升温的色谱分析方法。因此，该检测的分析时间较长。许多啤酒厂商的质控实验室只在最终产品的联二酮检测过程中检测氯仿是否存在 (典型的卤代烃组分)，象在图 2 中的结果。而也有实验室会检测全部的卤代烃内容。

实验四：硫化物组分测定

啤酒中 ppm 级的硫化物可使用 FID 检测器分析。如二甲基硫化物即可在乙醛检测中进行定量。故分析条件和色谱柱与在实验二中的相同，图 3 也给出了色谱结果。如果需要测定 ppb 含量硫化物的检测，就需要用到 PerkinElmer 公司最新推出的电化学硫化物检测器或其它专用硫化物检测器。

结论

PerkinElmer HS-GC 系统能够满足啤酒制造过程中所需的高通量质控检测。一旦酿造啤酒过程中产生或引入不符合要求的物质，在 ppb 或 ppm 水平利用 FID 和 ECD 可分别对其进行检测和定量。同时，本文所介绍的系统提供全自动操作，保证分析的重现性，消除人为误差。

在这里介绍的四个试验可以单独操作，但是考虑到生产量，也可同时进行两个实验。例如，在乙醛分析过程中同时分析硫化物，在检测联二酮时同时分析氯仿的含量，如果这些筛查实验表明目标化合物的含量超出预定值，那么接下来将用更多特定的分析来检测。

