

采用高效液相色谱法鉴别啤酒中异构化 α -酸的种类

杨朝霞 李 梅 武千钧

(青岛啤酒股份有限公司科研中心, 青岛, 266061)

摘 要 采用高效液相色谱法(HPLC)分析异构化 α -酸, 给出同一色谱条件下异 α -酸、二氢、四氢和六氢异 α -酸的 HPLC 谱图和各组分的紫外光谱。用该方法分析未知啤酒样品, 将其与标准品进行对照, 从而鉴别出样品中异构化 α -酸的种类。

关键词 HPLC, 鉴别, 啤酒, 异构化 α -酸

酒花中的 α -酸在麦汁煮沸时异构化, 形成异 α -酸, 赋予啤酒爽快的苦味。但由于 α -酸在麦汁中的溶解度较低, 异构化率也较低, 因而其利用率也较低。为了最大限度地提高 α -酸的利用率, 目前已开发出多种异构化酒花制品, 按结构可分为 4 类^[1], 如图 1 所示。

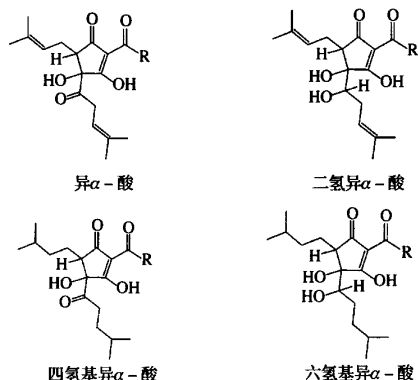


图 1 不同种类异构化 α -酸的结构

由于结构差异, 这 4 类异构化 α -酸在性质、作用和使用方法上有很大不同。其中, 异 α -酸受到光照后其侧链极易断裂, 既而产生所谓的“日光嗅”味; 而二氢、四氢和六氢异 α -酸因其侧链上的双键得到不同程度的还原, 从而阻止侧链断裂, 具有光稳定性。此外, 四氢和六氢异 α -酸能显著改善啤酒泡沫性能, 而异 α -酸和二氢异 α -酸无此明显功效。酿酒师们可根据需要选用合适的异构化酒花制品来生产具有不同特性的啤酒。

对于啤酒的异构化 α -酸, 传统方法是以紫外分光光度法测得的苦味质来评价。国外在 1980 年^[2,3]就已采用高效液相色谱法(HPLC)分析啤酒中的异构化 α -酸, 研究主要围绕色谱柱的选择、不同类型异构

化 α -酸的分离条件及样品前处理展开。1998 年, Joseph^[4]使用 Zorbax XDB-C8 色谱柱结合固相萃取柱(SPE)分析了啤酒中的异 α -酸和四氢异 α -酸。2001 年, Diedrich^[5]使用 Nucleosil C18 色谱柱结合 C8 SPE 同时分析了啤酒中异 α -酸、二氢及四氢异 α -酸。2006 年, Alexis^[6]使用新型的硅胶键合整体柱 Chromolith RP-18, 将啤酒经膜过滤后直接分析, 该方法同时分析了啤酒中的二氢、四氢和六氢, 但异 α -酸和六氢异 α -酸各组分间有部分重叠, 不能将这两者同时进行测定。国内尚未见有将 HPLC 应用于分析啤酒中的异构化 α -酸的相关报道。

文中采用 HPLC 分析啤酒样品中的异构化 α -酸, 将其与标准样品对照, 从而鉴别样品中异构化 α -酸的种类。

1 实验部分

1.1 试剂

4 种异构化 α -酸标准样品: 由 ASBC(美国酿造化学家协会)提供; 甲醇(色谱纯); H_3PO_4 (85%)分析纯; Milli-Q 超纯水。

1.2 仪器

Waters Alliance2695 HPLC, 2996 二极管阵列检测器。分析天平: 精确到 $\pm 0.0001 \text{ g}$ 。0.45 μm 针孔过滤器。

1.3 实验方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱为 Phenomenex Nucleosil C18 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 检测波长 270 nm, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.0 mL/min, 流动相为磷酸酸化甲醇-水(体积比 75:25)。

1.3.2 标准溶液的配制和样品前处理

酸化甲醇: 在 1 000 mL 甲醇中加入 0.5 mL H_3PO_4 。

分别称取一定量的异构化 α -酸标准样品, 用酸化

第一作者: 硕士, 助理工程师。

收稿日期: 2006-03-11, 改回日期: 2005-05-17

甲醇配制成适合浓度的标准溶液,经 $0.45\ \mu\text{m}$ 针孔过滤器过滤后上样。

样品前处理:将 10 mL 脱气啤酒中的异构化 α -酸用 10 mL 异辛烷萃取,离心,将上层溶液用氦气吹干,然后用 1 mL 酸化甲醇溶解样品,经 $0.45\ \mu\text{m}$ 针孔过滤器过滤后上样。

2 结果与讨论

2.1 标准溶液的谱图

图 2~图 5 分别列出了在同一色谱条件下异 α -酸、二氢异 α -酸、四氢异 α -酸和六氢异 α -酸的 HPLC 谱图和紫外光谱图。

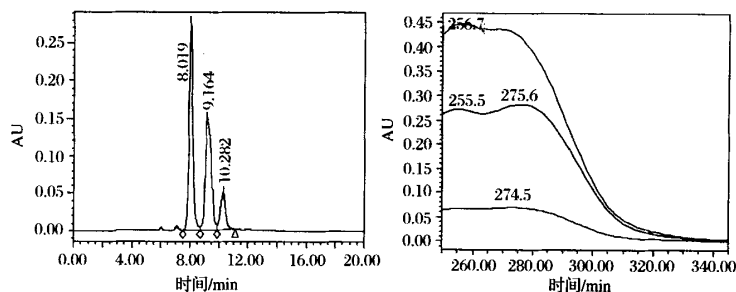


图 2 异 α -酸的 HPLC 谱图和紫外光谱图

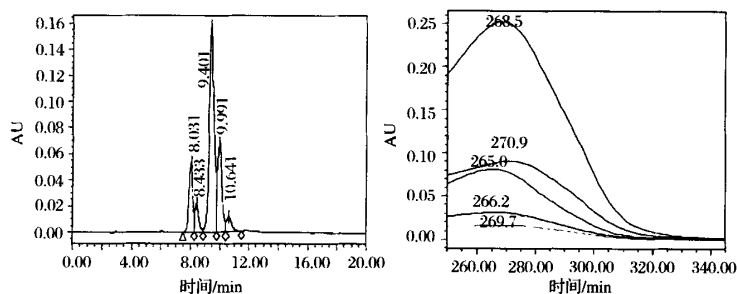


图 3 二氢异 α -酸的 HPLC 谱图和紫外光谱图

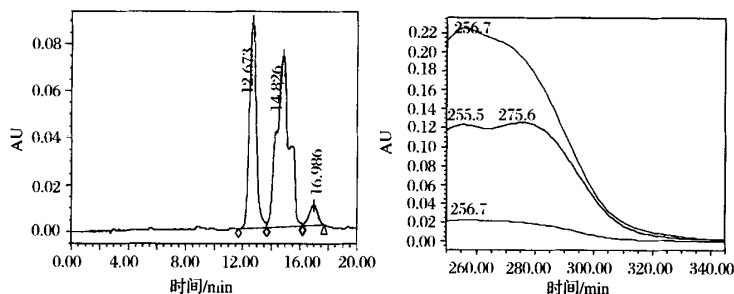


图 4 四氢异 α -酸的 HPLC 谱图和紫外光谱图

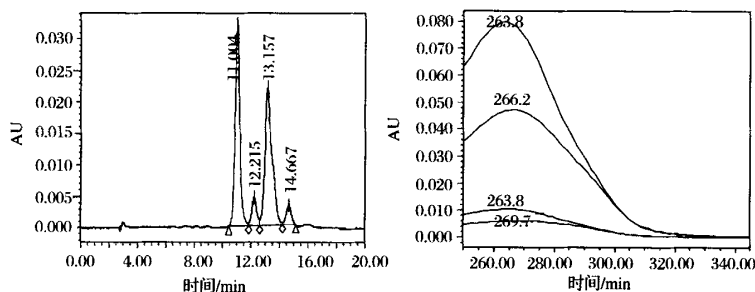


图 5 六氢异 α -酸的 HPLC 谱图和紫外光谱图

由图2~图5可以看出,在该色谱条件下,4种异构化 α -酸中的各种组分得到较好分离。其中,异 α -酸和二氢异 α -酸在保留时间上有部分重叠。由于二者结构太接近,使其在同一条件下难以完全分离。但在通常情况下,二氢异 α -酸主要用于抗日光作用,且不能与异 α -酸同时存在^[7],通过峰形和光谱的双重定性,可以基本判断样品中含有这两者中的哪一种。此外,四氢和六氢异 α -酸也有相似情况,可根据峰形、保留时间和光谱判断样品中含有其中的哪一种,但若它们同时出现在啤酒中,会给二者同时定量带来困难。

在Alexis Bolivar^[6]报道的色谱条件中,二氢、四氢和六氢异 α -酸可同时分离,但异 α -酸与六氢异 α -酸有部分组分重叠,不能将这两者同时定性。本文的方

法可与文献报道的方法互为补充,从而实现这4种异构化 α -酸的准确分析。同时,该文献中异 α -酸只分离出2个峰,前者为异合葎草酮,而后者是异葎草酮和异加葎草酮的叠加峰,而本文方法对异 α -酸中这3种组分的分离更为理想,可用于进一步研究异 α -酸不同组分对啤酒的影响。

2.2 啤酒样品的 HPLC 谱图

图6和图7分别是2个啤酒样品的HPLC谱图。通过与标准品的峰形、保留时间和光谱对照可以判断,图6为1种含有异 α -酸的啤酒,它是1种典型的添加酒花生产的啤酒;而图7为1种同时含有二氢和四氢异 α -酸的啤酒,由于工艺要求可以判断其中未添加颗粒酒花或其它酒花制品。

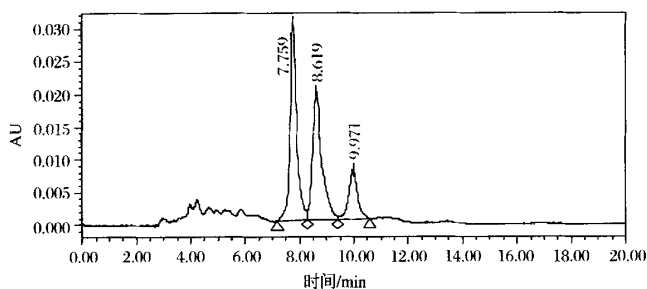


图6 啤酒样品1的HPLC谱图

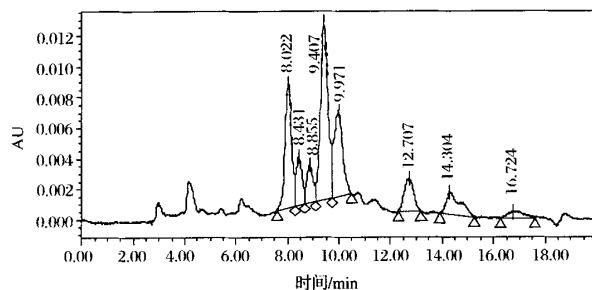


图7 啤酒样品2的HPLC谱图

3 结 论

采用HPLC分析异构化 α -酸,给出在同一色谱条件下异 α -酸、二氢、四氢和六氢异 α -酸的HPLC谱图和各组分的紫外光谱。该方法可用于鉴别未知啤酒样品中异构化 α -酸的种类。

参 考 文 献

- 1 Todd P H, Held R W, Guzinski J G. The Development and Use of Modified Hop Extracts in the Art of Brewing[J]. Tech Q Master Brew Assoc Am, 1996, 33(2): 91~95
- 2 Verzele M, Dewaele C, Van Kerrebroeck M. Analysis of beer iso alpha acids by high performance liquid chromatography without sample pretreatment[J]. J Chromatogr, 1982, 244(2): 321~326
- 3 Sala H, Diaz A, Gassiot M. High performance liquid chromatographic analysis of bitter acids in beer[J]. Afinidad, 1985, 42(397): 283~284
- 4 Joseph G Clark, Louis J Burroughs, James A Guzinski. High - performance liquid chromatography analysis of tetrahydro

- iso - α - acids in beer[J]. J Am Soc Brew Chem 1998, 56 (2): 76~79
- 5 Diedrich Harms, Frank Nitzsche. High - Performance separation of unmodified and reduced hop and beer bitter compounds by a single high - performance liquid chromatography method[J]. J Am Soc Brew Chem, 2001, 59(1): 28~31
- 6 Alexis Brolivar, Monica Gasparri and Carsten Zufall. A rapid and low - cost method for quantification of reduced iso - α - acids in brewing[J]. 2006, 64(1):39~46
- 7 管敦仪编著. 啤酒工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 210

Identification of Isomerized - α - acids in Beer by HPLC

Yang Zhaoxia Li Mei Wu Qianjun

(Technology Center of Tsingtao Brewery Co. Ltd., Qingdao 266061, China)

ABSTRACT A high performance liquid chromatograph (HPLC) method to identify isomerized - α - acids in beer was described. The chromatograms and UV spectrograms of iso - α - acid, rho - iso - α - acid, tetrahydro - iso - α - acid and hexahydro - iso - α - acid were presented respectively in the same condition. It can be used to identify the forms of isomerized - α - acids in unknown beer samples.

Key words HPLC, identification, beer, isomerized - α - acids

行业动态

中国发酵工业协会多元醇分会成立

中国发酵工业协会多元醇分会成立大会于2006年5月31日上午在山东省禹城市禹城宾馆大会议厅召开。

中国发酵工业协会理事长石维忱出席并主持了成立大会。中国发酵工业协会名誉理事长、中国食品添加剂协会名誉理事长尤新对当前多元醇的应用及发展趋势作了生动的学术报告。出席大会的还有中共禹城市委书记陈永华、中共禹城市人民政府副市长长春园、中国发酵工业协会功能性糖源分会理事长余淑敏、以及来自全国各地的专家、学者、企业界人士共计200余名代表参加了会议。会议选举余淑敏为中国发酵工业协会多元醇分会理事长、杜军为常务副理事长。王新建、刘宗利、王星云、程少博等为副理事长;朱新建为秘书长。

中国发酵工业协会多元醇分会是为了促进科学技术进步,在密切协会与政府的联系中发挥“纽带”和“桥梁”作用,发挥行业指导、服务、自律、协调、监督作用,团结和组织全国糖醇企业以及相关的大专院校遵守国家法律法规,维护会员的合法权益,努力提高行业水平和服务质量。为多元醇的“科技创新,和谐发展”服务。

会讯

2006中国“果汁”大会将在北京举办

“2006中国果汁大会”(CHINAJUICE2006)将于2006年8月31日至9月2日在北京举行。大会的主题是“加强果汁行业合作,促进世界贸易往来”。大会将安排全国主要果汁产区代表做产情介绍,市场分析,技术交流,商务展示和洽谈。来自世界各地的国际果汁生产商及贸易商,果汁进出口企业也将到场。

为进一步加强中外果汁业界的交流与合作,推动中国和世界果汁产业的发展,果汁分会已经确定将“中国果汁年会”定位为国际性的专业果汁会议,每年为世界各国果汁业界的同行们提供交流合作平台。

本届果汁大会由中国食品土畜进出口商会主办,果汁分会承办,并且已经得到中国有关政府部门、新闻媒体和企业的支持。中国食品土畜进出口商会果汁分会的会员企业占中国果汁产量和出口量的95%以上,届时都将参加本届会议。

中国是重要的果汁生产和出口国,同时也将是重要的果汁消费和进口国。从2002年以来,中国果汁饮料的消费量逐年上升,各类果汁的进口也逐年增长,但与人均每年消费70L的发达国家相比,中国仍然是有待继续开发的巨大市场。