

高效液相色谱法同时检测啤酒中的酪醇和色醇

贺立东, 刘月琴, 钟俊辉

(华润雪花啤酒(中国)有限公司技术中心, 天津 300400)

摘要: 以水-甲醇-冰乙酸溶液为流动相, 选用 C₁₈ 柱, 建立了 HPLC 法同时检测啤酒中的酪醇和色醇。采用的多极校正标准线性关系良好, 样品加标平均回收率为 95%~98%, RSD 均小于 1.5%(n=5), 方法检出限分别为 0.05 mg/L(酪醇)和 0.01 mg/L(色醇)。该法可以实现啤酒中酪醇和色醇的分离, 进行同时检测, 结果重现性好, 准确可靠。(孙悟)

关键词: 分析检测; 高效液相色谱; 啤酒; 酪醇; 色醇

中图分类号: O657.72; TS262.5; TS261.7 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2007)03-0107-03

Simultaneous Determination of Tyrosol and Tryptophol in Beer by HPLC

HE Li-dong, LIU Yue-qin and ZHONG Jun-hui

(R&D Center of Snow Brewery (China) Co. Ltd., Tianjin 300400, China)

Abstract: HPLC was applied to determine tyrosol and tryptophol in beer simultaneously with water-methanol-glacial acetic acid solution as mobile phase and C₁₈ column selected. The experimental results showed a good linear relationship between the peak area and the concentration of standard samples. The average recovery for standard samples was 95%~98%, and the relative standard deviations was less than 5%(n=5), and the limit of detection for tyrosol and tryptophol were 0.05 mg/L and 0.01 mg/L respectively. This method could achieve the separation of tyrosol and tryptophol in beer and realize simultaneous determination with good reproductivity and high precision. (Tran. by YUE Yang)

Key words: analysis and determination; HPLC; beer; tyrosol; tryptophol

啤酒酿造过程中, 酵母代谢产物中除酒精、二氧化碳外, 高级醇也是重要的成分之一, 目前, 大家普遍关心的高级醇主要有正丙醇、异丁醇、异戊醇、活性戊醇和-苯乙醇等。随着消费者对啤酒品质要求的日益提高和研究的深入, 啤酒研究者开始关注起啤酒中的另外两种高级醇, 即酪醇和色醇。

在啤酒中, 过高含量的酪醇和色醇是引起啤酒异苦味的原因之一。酪醇和色醇是由麦汁中的酪氨酸和色氨酸在酵母发酵代谢过程经伊氏路线 (Felix Ehrlich) 脱氨、脱羧而生成。关于啤酒中酪醇和色醇的检测, 目前国内尚未见公开报道。本实验应用 HPLC 反相 C₁₈ 柱, 水-甲醇-冰乙酸溶液为流动相, 成功地对啤酒中的酪醇和色醇进行了同时检测。

1 材料与方法

1.1 方法原理

酪醇和色醇都带有苯环结构, 具有相似的紫外吸收波长, 同时, 利用两者在理化性质方面的差异, 可通过

C₁₈ 柱, 采用特定的流动相进行分离, 实现同时检测。

1.2 仪器设备

Waters 公司 1525 高效液相色谱仪, Waters2487 紫外检测器。

色谱柱: Waters 公司生产 AtlantisC₁₈, 250 mm × 4.6 cm, 5 μm。

0.45 μm 针式膜过滤器, Waters 公司 Sep-pak C₁₈ 小柱。

1.3 药品试剂

甲醇: HPLC 级, Fisher 公司生产; 酪醇、色醇标准品购自 Fluka 公司; 无水乙醇、冰乙酸均为分析纯试剂。

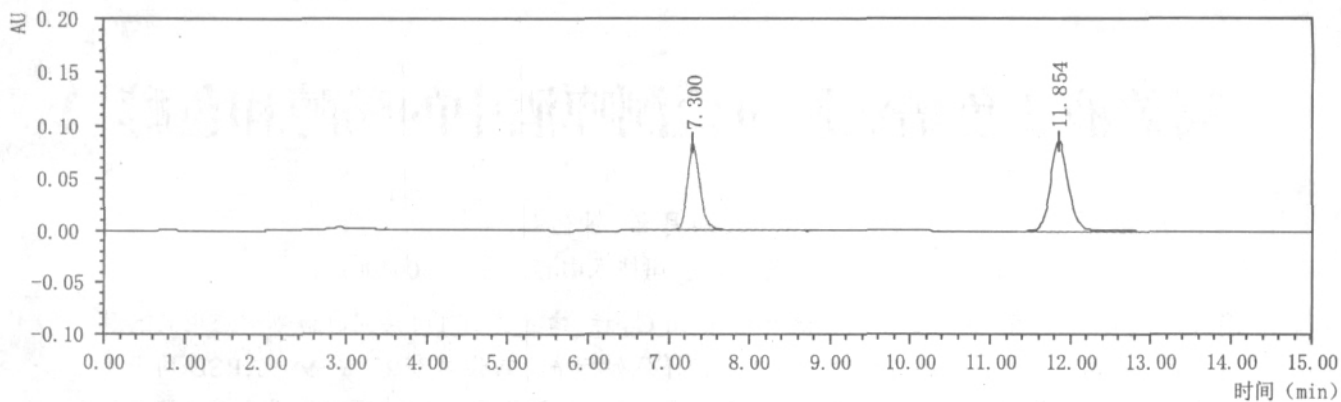
1.4 色谱分析条件

AtlantisC₁₈ 柱, 柱温 30℃, 甲醇-水-冰乙酸(体积比 40:59:1) 溶液为流动相, 流速 0.75 mL/min, 检测波长 280 nm, 进样量 10 μL, 采用峰面积外标法定量。

1.5 试验方法

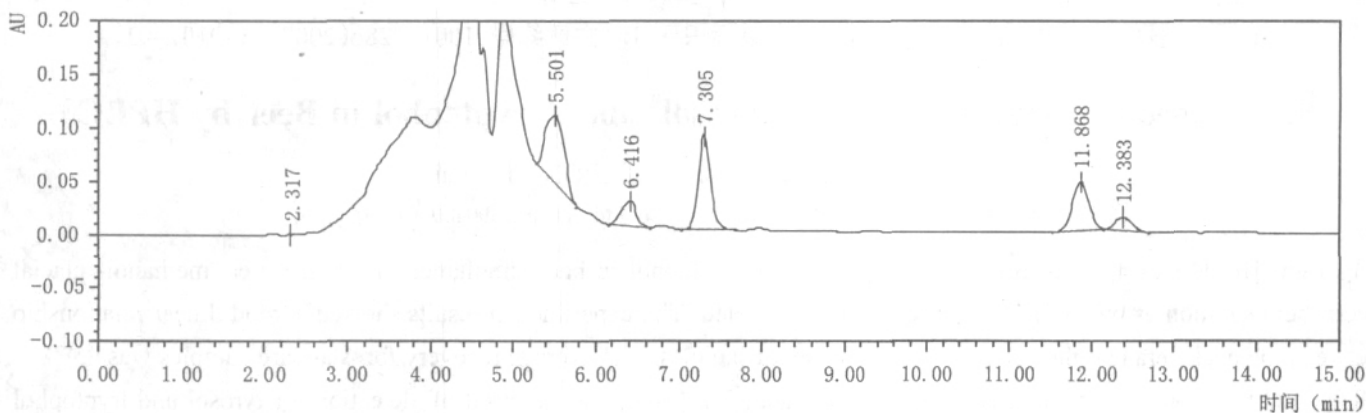
1.5.1 标准物质的配制及分离

收稿日期: 2006-11-13



注:酪醇 RT 7.3 min;色醇 RT 11.8 min。

图1 混合标样的色谱分离图



注:酪醇 RT 7.3 min;色醇 RT 11.8 min。

图2 啤酒样品的色谱分离图

标准物质的配制:以20%的酒精为溶剂,配制酪醇100 mg/L、色醇10 mg/L的混合标准储备溶液。

将混合标准储备溶液分别稀释100、50、25和10倍后进样,以峰面积为横坐标,标准物质浓度为纵坐标,进行线性回归,结果表明各组份线性关系良好(具体数据略),酪醇和色醇的线性相关系数分别为0.9995和0.9991。混合标样的色谱分离图见图1。

图1是已知浓度标准混合物质出峰及保留时间,由图1可以看出,在本试验条件下,混合标准物质可以完全分离。

1.5.2 样品的处理及分离

样品的处理:超声脱气过的啤酒经Sep-pak C₁₈小柱处理后,直接上样。图2为啤酒样品分离色谱图。

由图2可以看出,在本试验条件下,啤酒样品中的酪醇和色醇能实现很好的分离。

2 结果与分析

2.1 方法精密度(重复性)

取一啤酒样品,平行测定5次,计算方法的重复性结果见表1。

表1 方法精密度测定结果

名称	酪醇	色醇
1#	2.51	0.49
2#	2.61	0.54
3#	2.53	0.51
4#	2.58	0.53
5#	2.55	0.52
平均含量(mg/L)	2.548	0.518
标准偏差 S(mg/L)	0.04	0.017
相对标准偏差 RSD(%)	1.55	3.28

表1表明,5次重复测定,结果酪醇、色醇的相对标准偏差都小于5%,说明方法重复性好。

2.2 方法回收率(准确度)

以2.1测定过的啤酒样品作空白,分别加入已知量的标准品,测定其回收率,结果见表2。

2.3 方法检出限

连续分析7个接近空白的加标样品,计算其标准误差 S_x ,则方法最低检出限:

$MDL = S_x \cdot t_{(n-1,0.99)}$,其中 S_x 为n次检测结果的标准误差, $t_{(n-1,0.99)}$ 为置信度为99%、自由度n-1的t值,n为重复分析的样品数。分析7个样品时,查表知 $t_{(6,0.99)}$ 为

表2 酪醇、色醇回收率测定结果

名称	样品含量 (mg/L)	添加标准含量 (mg/L)	添加后测定量 (mg/L)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
酪醇	2.548	1.00	3.41	96.1	96.2
		2.00	4.36	95.8	
		3.00	5.37	96.7	
		0.5	0.96	94.3	
色醇	0.518	1.0	1.43	94.2	93.7
		1.5	1.87	92.6	

3.707。

方法选择接近空白加标样品的酪醇和色醇浓度均为 0.05 mg/L, 计算结果见表 3。

表3 方法检出限测定结果 (mg/L)

名称	标准偏差	标准误差	检出限
酪醇	0.0145	0.00548	0.017
色醇	0.0175	0.00661	0.024

表 3 结果显示, 酪醇和色醇的检出限分别为

0.017 mg/L 和 0.024 mg/L, 而据资料介绍, 啤酒中酪醇含量为 1~3 mg/L, 色醇含量为 0.1~0.5 mg/L。因此, 采用本法完全适用于啤酒中酪醇和色醇的检测。

3 结论

以水-甲醇-冰乙酸溶液为流动相, 选用 C₁₈ 柱, 可以实现啤酒中酪醇和色醇的分离, 进行同时检测, 该方法对啤酒样品处理要求低, 结果重现性好, 准确可靠, 为进一步研究啤酒内在品质和其作用机理提供了数据分析和有效的支持。

参考文献:

- [1] V A Kukin, The chemical composition and pharmacological properties of Rhodiola plants[J]. Pharm Chem. J 1986,20(10): 1231.
- [2] H F Lmskens and J F Jankson, High performance liquid chromatography in plant [J]. Sciences, 1987, 92- 101.
- [3] 顾国贤. 酿造酒工艺学(第二版)[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996.

定白酒中微量汞含量, 回收率较高, 较双硫脲法简便易行, 无需有机溶剂, 环境污染小, 该法可直接应用于白酒中汞的测定。

参考文献:

- [1] 郭剑雄. 食用酒精重金属检验新方法的研究[J]. 酿酒科技, 2006, 147(9): 91- 93.
- [2] 胡世荣, 李学林, 刘佳铭. 二氢萘酮用于荧光猝灭法测定痕量汞[J]. 化学研究与应用, 2006, 18(8): 969- 971.
- [3] 王亮, 胡秋芬, 杨光宇, 等. 在线固相萃取富集反相液相色谱法测定水中的铅、镉、汞、银[J]. 分析化学, 2004, 32(4): 421- 424.
- [4] 牟仁祥, 陈铭学, 朱智伟, 等. 微波消解- 氢化物发生- 原子荧光光谱法测定大米中痕量汞[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(2): 236- 237.

(上接第 106 页)

差 $\pm 5\%$, 对常见共存离子进行干扰试验, 结果表明, 共存离子允许倍数为: Na⁺、K⁺ (1000)、Mg²⁺、Ca²⁺、Ba²⁺ (500); Zn²⁺、Mn²⁺ (100); Cd²⁺、Al³⁺ (50); Fe³⁺ 因易水解而产生干扰; 等量的 Pb²⁺、Ag⁺ 对 Hg() 测定存在干扰。

2.3 样品的测定

两瓶待测酒样(购于当地超市), 分别各取 10.0 mL 于 50.0 mL 容量瓶中定容。取 1.0 mL 于 10 mL 比色管中, 按 1.2. 实验方法, 进行样品测定及回收率试验。结果见表 1。从表 1 可见, 与双硫脲法比较, 结果基本一致。

3 结论

实验表明, 以溴甲酚绿为光谱探针的分光光度法测

香港酒类行业协会 建议政府减酒税

本刊讯: 据悉, 香港酒类行业协会联合主席陈发隆表示, 相比于内地、澳门、台湾及新加坡等邻近市场, 目前香港征收的酒类消费税几乎是区内最高, 对旅游业及相关的行业构成影响。协会建议将酒税下调, 啤酒的税率由现时的 40% 下调至 10%; 葡萄酒由 80% 下调至 40%; 烈酒由 100% 下调至 50%。调低酒税后, 酒类的零售价可调低 21%, 消费者有更多选择, 亦为旅游业带来刺激。立法会饮食界议员张宇人认为, 酒税下调后, 相信不会大幅影响政府的税收, 反而长远对政府的库房收入有正面的影响。如果政府能取消葡萄酒税, 相信香港能够发展成葡萄酒批发中心, 并创造千个就业机会。(江源)

洋河酒厂取得历史性突破

本刊讯: 据悉, 2006 年洋河酒厂实现销售收入总额超 10 亿元, 同比增长 72.3%, 实现利税同比增长 72.7%, 上交税金同比增长 52%, 取得了历史性突破。2006 年, 洋河酒厂贯彻“蓝色经典主导、洋河大曲跟进、培育敦煌古酿”的营销策略, 三大主导品牌实现销售收入 9.17 亿元, 同比增长 5 个亿, 增幅 123%, 占公司销售总额 64.3%。其中, 主导品牌洋河蓝色经典在中国高端白酒新秀中已占据重要地位, 接近了水井坊和国窖 1573 的销售额; 老字号洋河大曲销售 2.06 亿元, 其中, 洋河蓝瓷单品销售超过 6950 万元, 是 2005 年的 3 倍。(丹妮)