

高效液相色谱 HPLC 测定啤酒中木聚糖的研究

彭 维¹, 欧爱芬²

(1.广州医学院, 广东 广州 510182; 2.广州市药品检验所, 广东 广州 510160)

摘要: 以高效液相色谱法测定啤酒中的木聚糖, 结果表明, 实验加标回收率分别为 93.36%, 相对标准偏差 RSD 值为 1.73%; 液相色谱法可以准确分析啤酒中木聚糖的含量。

关键词: 高效液相色谱; 啤酒; 木聚糖

中图分类号: TS262.6; O657.12; TS261.7 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2013)03-0108-03

Study on the Measurement of Xylan Content in Beer by HPLC

PENG Wei¹ and OU Aifeng²

(1. Guangzhou Medical College, Guangzhou, Guangdong 510182; 2. Guangzhou Drug Testing Institute, Guangzhou, Guangdong 510160, China)

Abstract: The measurement of xylan content in beer by HPLC was studied. Its recovery rate was 99.36% and its RSD was 1.73%. The experimental results showed that HPLC could be used for accurate measurement of xylan content in beer.

Key words: HPLC; beer; xylan

近几年, 小麦芽在啤酒工业中被广泛用作酿造原辅料^[1], 其在生产酿造过程中带来的高含量大分子木聚糖在麦芽糖化中不能充分降解, 会引起麦汁浸出率低、粘度增加^[2]、延长过滤时间^[3]、产生冷浑浊等问题, 严重影响啤酒的生产和产品质量^[4]。木聚糖的基本结构是以(1→4)-β-D-呋喃木糖残基为线性骨干, 通过 C(O)-2, C(O)-3 或 C(O)-2,3 键联上 α-L-阿拉伯呋喃取代物, 分子内部广泛交联, 形成错综复杂的网状结构^[5]。目前尚没有测定木聚糖的标准检测方法, 常规的分析测定方法主要有比色法^[7]、液相色谱法^[8]和气相色谱法^[9]。

本实验通过对木聚糖的高效液相色谱法进行研究, 为啤酒生产企业生产过程中木聚糖的检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品、仪器及试剂

样品: 市售啤酒。

仪器: 高效液相色谱仪(配示差折光检测器); 天平(精确到 0.001g 和 0.0001g); 真空旋转蒸发器; 温控水浴锅; 微孔滤膜(0.45 μm); 紫外分光光度计; pH 计。

试剂: 超纯水; 乙腈(色谱纯); 硫酸、氢氧化钠; 木糖对照品(纯度 ≥ 99.5%); 其他试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

用高效液相色谱法测定木聚糖。

1.2.1 色谱条件

收稿日期: 2012-09-20; 修回日期: 2012-12-07

作者简介: 彭维(1980-), 男, 博士, 工程师, 研究方向: 食品质量与安全, penweiv@163.com。

优先数字出版时间: 2012-12-14; 地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20121214.1138.003.html>。

色谱柱: 键合氨基柱(5 μm, 4.6×250 mm)^[10], 4.6×250 mm, 5 μm; 流动相: 乙腈: 水(75:25, v/v); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测器: 示差检测器, 35 °C; 进样量: 10 μL。

1.2.2 标准工作曲线制作

分别吸取木糖标准品溶于 1 L 容量瓶中, 分别加流动相至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得木糖标准系列溶液, 分别含木糖 1 mg/L、2 mg/L、4 mg/L、6 mg/L、7 mg/L。分别取 10 μL 标准系列溶液进样分析, 以木糖浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制木糖的峰面积-浓度标准曲线。

1.2.3 啤酒样品的处理

啤酒水解后供试品溶液制备: 取 10 mL 啤酒经超声除气, 于 25 mL 比色管中, 加入 4.0 mol/L H₂SO₄ 1 mL, 摇匀, 于 80 °C 水浴水解 90 min, 取出, 冷却至室温, 加水 10 mL, 加 8.0 mol/L 氢氧化钠溶液中和硫酸(用 0.1 mol/L 氢氧化钠或 0.1 mol/L 硫酸溶液调 pH 值至 5~7), 冷却后用纯水定容至刻度。精密量取溶液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加流动相定容至刻度, 充分混匀后静置 3 min, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 该溶液为水解后供试品溶液, 总稀释体积 V_i=2500 mL。

1.2.4 样品测定

取啤酒水解供试品溶液 10 μL 进液相色谱分离测

定,根据色谱峰保留时间定性,外标峰面积法进行定量。

1.2.5 结果计算

根据待测供试品色谱峰面积,由标准回归方程式得啤酒样品中木糖含量,再乘以木聚糖聚合系数 0.9,即为木聚糖含量。

供试品中木聚糖含量按下式进行计算。

$$M(\text{mg/L}) = C_1 \times V_1 \times 1000 / V_0 \times 0.9$$

式中: $M(\text{mg/L})$ ——啤酒样品中木聚糖含量;

$C_1(\text{g/L})$ ——供试品溶液木糖组分浓度;

$V_1(\text{mL})$ ——供试品溶液水解后的总稀释体积;

$V_0(\text{mL})$ ——啤酒样品的取样体积;

0.9——木聚糖聚合系数。

2 结果与分析

2.1 高效液相色谱法检测木糖

图 1 为木糖-木四糖色谱图。由图 1 可知,其木糖保留时间为 7.325 min,木糖与木二糖、木三糖、木四糖出峰时间不同,有较好的分离度,能较好的分离检测。图 2 为啤酒样品的木糖检测结果,计算其出峰面积对照标准曲线可求出木聚糖的含量。

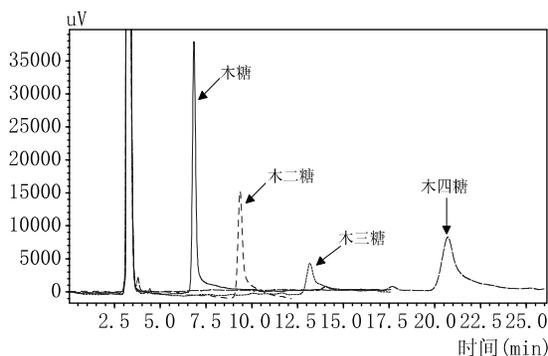


图 1 木糖-木四糖色谱图

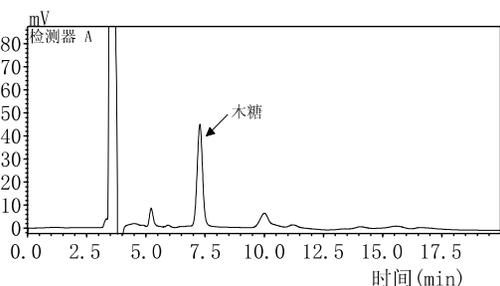


图 2 啤酒样品中木糖的色谱图

2.2 高效液相色谱法检测木糖标准曲线与检测限

以木糖浓度为横坐标,以液相检测峰面积为纵坐标,其标准曲线见图 3,显示线性关系较好。计算信噪比为 3 时所对应的标准溶液的浓度确定检测限,得到最低检测限(LOD)为 0.12 mg/L。

2.3 回收率检测

取同一啤酒样品稀释,分为等量 3 份作平行,分别采

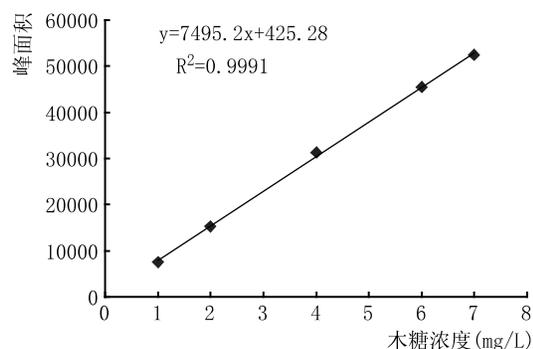


图 3 色谱法测定木糖标准曲线

用液相色谱法检测,在分别加入木糖标样,计算其加样回收率,结果见表 1。从表 1 可以看出,用色谱法平均回收率为 93.36%,初步表明高效液相色谱法测定木聚糖的准确性好。

表 1 色谱法检测啤酒样品回收率

项目	高效液相色谱法		
	平行 1	平行 2	平行 3
原样浓度(mg/L)	516	537	542
加样浓度(mg/L)	500	500	500
测定浓度(mg/L)	953	943	946
回收率(%)	94.85	92.57	93.56
平均回收率(%)	93.36		
RSD(%)	1.73		

2.4 啤酒样品分析结果

表 2 为市售啤酒采用高效液相色谱法的检测结果。

表 2 高效液相色谱法测定不同啤酒中木聚糖含量

样品	结果(mg/L)
珠江纯生	543
青岛(山水)	768
燕京(鲜啤)	813
百威	724

3 结论

测定木聚糖常用的比色法主要通过将啤酒中的木聚糖经过浓酸处理成木单糖,木单糖再与含苯化合物如间苯三酚、地衣酚、苯胺等反应显色,通过比色法计算木聚糖含量^[1]。此法对于仪器设备要求低,能较为快速的对木聚糖含量进行测定,适用于半自动化的大规模样品测定,其缺点在于不能对木聚糖中的单糖组成进行精确定量,易受到葡萄糖衍生物物质的干扰。高效液相色谱 HPLC 法通过酸水解,使啤酒中的木聚糖水解成木单糖,再用高效液相色谱法分离并测定木糖含量,水解后木糖含量乘以木聚糖系数即为啤酒样品中木聚糖含量。此法较为精确,但很大程度上受到仪器的影响。综上所述,高效液相色谱 HPLC 检测方法对啤酒原料的选择和啤酒生产过程控制现场检测有很好的指导意义。

参考文献:

- [1] 沈耀飞.全小麦啤酒酿造技术研究[J].啤酒科技,2005(6): 26-29.
- [2] Yin Li, Jian Lu, Guoxian Gu, et al. Mathematical modeling for prediction of endo-xylanase activity and arabinoxylans concentration during mashing of barley malts for brewing[J]. Biotechnology Letters.2004,26: 779-785.
- [3] Sadosky P, Schwarz P B and Horsely R D. Effect of arabinoxylans, β -glucan, and dextrans on the viscosity and membrane[J]. Journal of the American Society of Brewing Chemists.2002,60: 153-162.
- [4] Coote N and Kirsop B H. A haze consisting largely of pentosan. [J]. Journal of Institute Brewing.1976,82: 34.
- [5] 黄广民,姚伯元,刘仁成.椰壳中木聚糖含量的测定[J].食品科学,2007,28(6): 271-275.
- [6] Hashimoto S, Shogren M D and Pomeranz Y. Cereal Pentosans: their estimation and significance. I. Pentosans in wheat and milled wheat products[J]. Cereal Chem, 1986,64: 30-34.
- [7] 李胤,陆健,顾国贤.啤酒中戊聚糖的测定——地衣酚-盐酸法[J].食品与发酵工业,2003,29(9): 35-38.
- [8] 刘玉峰,李黎,李东.高效液相色谱法测定食品中的单糖、双糖[J].食品科学,2007,28(3): 293-297.
- [9] 刘海生,孙琳琳.啤酒中阿拉伯木聚糖的含量[J].啤酒科技,2004(12): 69-70.
- [10] 秦宏伟,张林军,周广田.高效液相色谱在啤酒检测中的应用[J].中国酿造,2009(5): 155-158.
- [11] Douglas S G. A rapid method for the determination of pentosans in wheat flour[J]. Food Chemistry, 1981,7,139-145.

中国酒业协会抵黔调研

本刊讯:2013年2月27日~28日,中国酒业协会理事长王延才、中国酒业协会白酒分会秘书长宋书玉、副秘书长甘权一行在贵州省酿酒工业协会副秘书长王庆祝、黄平、黎阳陪同下分别到贵州茅台酒厂集团、贵州董酒股份有限公司,对企业情况、营运现状及行业关心的热点问题进行调研,听取企业对协会工作的意见和建议,与企业做了行业情况专题沟通。

调研中,王延才理事长一行参观了企业的酿酒车间、制曲车间、酒库、包装车间和技术中心,听取企业汇报,详细了解企业发展情况和生产中存在的问题,专门了解了企业在白酒贮存和原酒运输过程中防范塑化剂迁移采取的措施。

在茅台酒厂集团的沟通会上,宋书玉秘书长介绍了全国酒行业目前在防范产品安全风险上采取的一些措施,国家有关部门出台的、与酒行业相关的政策,就白酒质量标准和安全标准的调整和企业做了沟通。茅台酒厂集团向中酒协汇报了在防止塑化剂迁移采取的措施和积累的经验,对行业标准的调整以及协会工作做了沟通,提出了意见和建议。

茅台酒厂集团董事长袁仁国、党委书记陈敏带领集团领导班子会晤了王延才理事长。

在董酒厂调研时,王延才理事长一行专门就董香型这一贵州独有香型如何适应白酒质量标准和安全标准调整和企业做了沟通,得到了企业积极响应;贵州董酒股份有限公司董事长蔡友平表达了把董酒做大做强的信心。

调研期间,贵州省酿酒工业协会副理事长龙超亚与王延才理事长进行了座谈,王延才理事长通报了调研情况,龙超亚副理事长介绍了贵州酒行业发展情况和我省酒行业通过品牌战略做大做强的信心;双方就如何通过人才培养合作推动黔酒发展、协会服务能力提升、白酒行业如何防范行业安全风险交换了意见;双方对贵州酒业发展充满信心,相信会有全国消费者会喝到更多的、优质的、健康的贵州酒。(黎阳)



王延才理事长与龙超亚副理事长交谈



在茅台调研



茅台集团副总经理吕云怀陪同事长
参观生产车间



在董酒调研