

啤酒中风味物质检测技术研究进展

李婷婷, 胡莲花, 王雅玲* (大连民族学院生命科学学院, 辽宁大连 116600)

摘要 对目前常用的啤酒中风味物质检测技术进行了系统阐述, 对各种方法作出比较并归纳了它们的特点及适用范围, 指出啤酒中风味物质检测技术的研究动态, 旨在能为啤酒中风味物质的深入分析研究及相关评价工作提供参考。

关键词 风味阈值; 顶空分析; 固相微萃取 (SPME); 色谱技术

中图分类号 TS201 **文献标识码** A **文章编号** 0517 - 6611 (2009) 25 - 11862 - 02

Research Progress on the Detection Techniques of Flavor Substances in Beer

LI Ting-ting et al (College of Life Science and Technology, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116600)

Abstract The currently common used detection techniques of flavor substances in beer were described. Different methods were compared and their characteristics and application range were summarized. The research dynamics of the detection technologies of flavor substances were pointed out. The purpose is to provide reference for further research, analysis and relative evaluation on the flavor substance in beer.

Key words Taste threshold; Headspace analysis; Headspace solid phase micro-extraction; Chromatography

食品的风味是人的感觉器官从视觉、嗅觉、味觉及触觉 4 方面的综合反应, 食品的风味物质决定着食品的品质, 具有组成复杂、含量极少、有一定的挥发性和热不稳定性、对酸碱比较敏感, 易被酶破坏、缺乏普遍规律性等特点^[1]。啤酒作为一种发酵酒, 其风味物质成分非常复杂, 种类繁多, 已经检出的就有数百种, 其中对啤酒风味影响较大的有几十种^[2]。啤酒中风味物质的种类和数量, 不仅决定啤酒的风格和类型, 而且对啤酒的酿造过程控制和啤酒质量起着关键作用^[3]。

啤酒风味物质检测技术是啤酒风味物质分析评价的重要研究内容。世界各大啤酒集团及食品科研人员在啤酒风味物质检测方面已做了大量研究工作, 开发了许多风味物质分析方法, 建立了啤酒风味物质指纹图谱数据库^[3], 并将这些方法和数据库用于啤酒生产控制, 保持啤酒品质量。

我国啤酒工业近年来发展迅猛, 但不均衡, 在产品过程控制和质量监控方面与发达国家相比有较大的差距, 严重制约了啤酒行业的技术水平。同时, 随着生活水平的提高, 啤酒作为饮料酒越来越受到人们的喜爱, 对其口味的要求也不断提高。所以利用现代分析技术检测啤酒中的风味物质, 监控啤酒的生产过程及其品质, 调整啤酒的类型及保持其风味稳定, 成为啤酒行业发展的必然趋势。

1 啤酒中的风味物质^[4]

风味阈值是指某种风味成分在啤酒中可感受到的最低含量。某种风味成分对啤酒的影响, 主要与其浓度和风味阈值有关, 风味物质浓度/风味阈值 = 风味强度 (FU)。一般来讲, FU 小于 0.5 不会对风味产生影响, 在 0.5 ~ 2.0 时会对啤酒风味产生一定的影响, 大于 2.0 会对啤酒的风味有严重的影响。根据风味强度值的大小, 将啤酒中的风味成分分为 4 类:

1.1 首要的风味成分 (FU > 2.0) 一般为乙醇, 酒花苦味物质 (如异草酮) 和 CO₂。特殊啤酒中为酒花香气成分, 谷物香气成分, 高浓啤酒的几种酯类和醇类, 短链脂肪酸; 缺陷啤酒中为反-2-壬烯醛, 双乙酰和 2,3-戊二酮, H-S, DMS 等含

硫化物, 乙酸, 3-甲基-2-丁烯硫醇, 其他因微生物污染等生成的风味成分。

1.2 次要的风味成分 (FU = 0.5 ~ 2.0) 次要的风味成分包括挥发性成分和非挥发性成分, 挥发性成分有香蕉酯 (如乙酸异戊酯), 苹果酯 (如己酸乙酯), 杂醇油 (如异戊醇), C₆、C₈、C₁₀ 脂肪酸, 乙酸乙酯, 丁酸和异戊酸, 苯乙酸; 非挥发性成分有酚类, 各种酸类, 糖类及酒花化合物。

1.3 第 3 类风味成分 (FU = 0.1 ~ 0.5) 及其他风味成分 (FU < 0.1) 第 3 类风味成分有乙酸苯乙酯, 对氨基苯乙酮, 异戊醛, 乙偶姻, γ-戊内酯等。其他其风味成分指不在上述范围的风味成分。

2 啤酒中风味物质分析检测方法

色谱、质谱技术是检测啤酒中风味物质的重要手段, 目前较为先进的啤酒中风味物质检测技术有气相色谱法 (GC)、色谱-质谱联用法 (GC-MS)、气相色谱-吸闻检测技术 (GCO) 及液相色谱法 (HPLC) 等。

2.1 气相色谱法 气相色谱作为混合物的分离工具, 对挥发性、半挥发性化合物的分离分析发挥了重要的作用, 是检测分析啤酒中挥发性风味物质的最有效手段。由于啤酒本身的粘度较大, 故在采用气相色谱法分析时, 很少采用直接进样的方式, 一般都要进行预处理。常用的预处理方法有蒸馏法、溶剂萃取法、顶空 (HS) 分析法、固相微萃取法 (SPME) 等, 这些预处理方法与气相色谱结合便产生了一系列的具体方法。

2.1.1 蒸馏-气相色谱法。 高级醇是含 3 个碳原子以上的醇类的统称, 是啤酒必要的风味物质, 但含量过高会使啤酒产生异杂味, 导致“上头”。该法通过蒸馏将啤酒中的一些低挥发性物质吹出, 然后用气相色谱测定高级醇等成分。苗延林等采用该法在检出高级醇的同时, 还检出啤酒中含量最大的酯——乙酸乙酯和乙醛等成分^[5]。虽然该法操作简单, 可以避免由不挥发物质对色谱柱的污染而造成色谱柱分离微量组分性能的下降, 但加热蒸馏一般会使构成香味物质的成分发生变化, 影响风味物质的检出, 且检测结果的精密度较低^[6]。

2.1.2 溶剂萃取-气相色谱法。 啤酒中游离脂肪酸的含量对啤酒的风味及稳定性具有重要的影响, 其中低碳链的异戊

作者简介 李婷婷 (1978 -), 女, 辽宁本溪人, 硕士, 讲师, 从事食品质量与安全的研究。* 通讯作者, 博士。

收稿日期 2009-04-29

酸、己酸、辛酸和癸酸是啤酒“酸败味”的代表成分;高碳链的游离脂肪酸,特别是油酸、亚油酸、亚麻酸等不饱和脂肪酸是啤酒老化醛类物质的前体^[3]。萃取可实现样品的分离和浓缩,用于一些较难挥发的脂肪酸等重要组分的检测。然而,啤酒中脂肪酸含量极少且极不稳定,传统的溶剂萃取法操作繁琐,定量测定也不够准确,刘春风等采用多级溶剂液-液萃取法提取浓缩啤酒游离脂肪酸,减少了酯化、萃取浓缩过程中的误差及对脂肪酸的破坏,消除了啤酒基体物质对目标化合物检测的干扰,从而提高检测灵敏度和测定的准确性^[7]。

2.1.3 顶空分析-气相色谱法。顶空法是一种只分析样品中易挥发成分的较简单方法,它避开不挥发物的干扰,省去样品蒸馏,更贴近于嗅觉分析,有静态法和动态法之分。静态法简单易行,但无富集作用,不能检出含量低微的成分,沸点较高的物质通常只能分析到辛酸乙酯的水平^[8-9]。动态法(又称吹扫捕集法)则具有高度的富集作用,可检出挥发性较弱和含量很低的组分,定量重现性高,但对一些难挥发的重要组分,如有机酸、 β -苯乙醇、酒花香组分无法检测,并且其装置较为复杂,操作要求极高^[8,10]。

啤酒中的挥发性风味成分中含量明显的有乙醛、正丙醇、乙酸乙酯、异丁醇和异戊醇,其余组分含量甚微^[8]。采用该法可定量测定啤酒中的乙醛、二甲基硫、乙酸乙酯、乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、正丙醇、异丁醇、异戊醇等9种化合物^[4]。王莉娜等采用顶空进样-毛细管柱气相色谱法,1次进样准确测定啤酒中12种主要挥发性香味组分,分离效能高、操作误差小,具有很好的重现性^[11]。

2.1.4 直接进样气相色谱法。啤酒所含的有机酸种类极多,是啤酒酸味的主要成分,分为挥发性酸和非挥发性酸两类。由于啤酒中绝大多数有机酸含量甚微,不挥发性成分含量很高,且具有高极性、易吸附、高沸点、难气化的特点,所以进行气相色谱分析前一般需将有机酸衍生为酯使之与干扰成分分离^[12]。经过各种前处理后的样品均有一定的失真现象,直接进样法则操作简单,样品无污染、不失真,但其缺点在于不挥发组分会使色谱柱的寿命大大缩短^[5]。随着色谱柱技术的发展,应用高效毛细管色谱柱可定量检出20余种微量风味物质^[8],能直接测定未经衍生的有机酸。苗延林等初步找到了一种利用普及型色谱仪,省略繁琐的衍生处理,仅对样品仅经中和、蒸发除去干扰物后就直接进样分析啤酒中挥发性有机酸的方法^[12]。

2.2 气相色谱-质谱联用法 气-质联用技术将具有高分离效能的气相色谱技术与能进行物质定性质谱联用,以精准测定多种风味组分。该法可对啤酒中的多类挥发性化合物进行分离和定性定量,适于醇、酯、脂肪酸、醛、酮、含硫化合物、酚等挥发性化合物的测定。啤酒中有机物组分经预处理、气相色谱分离分析、气相色谱-质谱定性,1次可定性近百种组分^[3]。目前多采用顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱法检测分析啤酒中的微量风味物质。

固相微萃取技术(SPME)在啤酒香味组分分析中具有独特优势,不需样品预处理,将萃取、浓缩、进样集于一体,分析复杂基质的微(痕)量组分时具有高富集性、高灵敏度和一定

的选择性,对中高沸点组分的富集效果优于易挥发性组分。分析检测到的组分种类多、范围广,1次进样即可定量测定醇、醛、酯、酸等啤酒香味的“骨架”组分,且设备投入相对低廉,操作较为简便^[9-10]。但它只能检测出辛酸、癸酸沸点较低脂肪酸,不能检出碳原子数较高的油酸、亚油酸等不饱和脂肪酸^[7]。

酒花给啤酒带来苦味和独特的香气,其组分复杂,啤酒中含量极微,采用一般气相色谱法很难进行定性定量分析。王憬等采用顶空固相微萃取技术,从啤酒中鉴定了里哪醇、 β -香茅醇、 α -蒎品醇、香叶醇、反式-橙花叔醇、乙酸香茅酯、香叶酸甲酯、乙酸香叶酯等8种酒花香组分,随后选择离子监测模式以蒎品烯-4-醇为内标,实现了定量测定,结果重复性良好^[13]。胡国栋等则在选择合适的萃取头,优化各种操作条件后,采用顶空-固相微萃取方式共获得了41种香味化合物的确切定性结果,包括14种酯类、12种醇类、8种酸类、3种醛类、2种酚类、1种含硫化合物和1种含氧杂环化合物^[10]。1次进样实现了高级醇、挥发酯的测定以及一些与酵母味、氧化味、酒花香相关的微量组分的量化,使啤酒的质量控制分析技术迈向新的台阶。

此外,一维气相色谱方法(SPME-GC/MS)对啤酒中风味物质进行分析只能得到几十种风味“骨架”成分,全二维气相色谱/质谱联用技术(GC \times GC)则可对啤酒风味成分进行更高层次的检测。GC \times GC由分离机理不同而又互相独立的两支色谱柱串联而成,具有高峰容量和高分辨率,灵敏度是一维色谱的20~50倍,样品分开更加容易且分析时间短^[14]。粟学刚等用全二维气相色谱/质谱法得到了数百种啤酒风味成分,使一些常规方法无法检出,但由于协同作用等对啤酒风味影响大的物质得以检出^[14]。

2.3 气相色谱-气味检测技术(GCO) GCO利用气相色谱的高分离效能,将啤酒中复杂的风味组分分离成单个的化合物,毛细管柱的出口一分为二,一个接FID检测器进行常规的定量,一个接气味检测器,通过人的嗅觉鉴别单个成分的风味特征。GCO法与GC-MS相结合,可以鉴别啤酒中具有明显风味特征的成分,如异戊醇、 β -苯乙醇、酯类、老化羰基化合物及杀菌剂味、硅藻土吸附的风味物质、易拉罐内层涂料引起的异味等风味物质^[4]。利用多维气相色谱-气味检测法与气相色谱-质谱技术结合可测定啤酒、酿造过程及原料中的风味化合物和异味组分。

2.4 高效液相色谱(HPLC)法 HPLC在啤酒行业中主要用于糖组分、有机酸、氨基酸、维生素、蛋白质、酒花苦味成分以及原料真菌毒素等方面的分析。通过该法可测定数种氨基酸,从而了解氨基酸的配比是否对良好的啤酒风味有利,并加以控制;采用二极管阵列检测器,可以测定啤酒中的草酸、酒石酸、丙酮酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸等有机酸;此法还可测定啤酒的主要苦味物质酒花及酒花制品中的 α -酸和 β -酸等^[3]。

3 展望

目前,国内外学者对食品的风味物质的分离分析做了大量的工作,研究了其形成机理和性质,食品风味分析技术也

(下转第11899页)

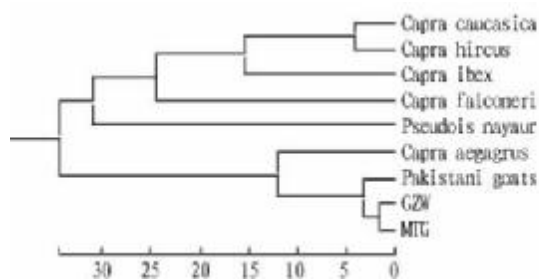


图3 基于山羊品种间遗传距离构建的邻接树

Fig. 3 Neighbor-joining tree based on the genetic distance among different varieties of goat

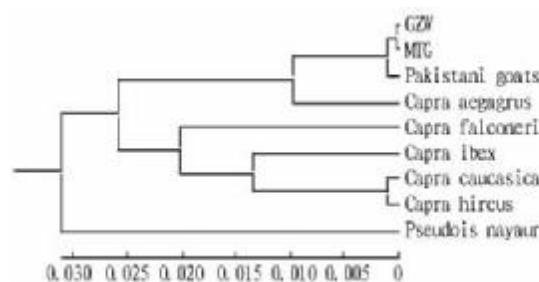


图4 基于品种间平均核苷酸差异度构建的邻接树

Fig. 4 Neighbor-joining tree based on the average difference degree of nucleotide among different varieties

的突变可能未达到饱和状态,随着遗传差异的增加,转换趋于饱和。2个山羊品种共发现12个变异位点,仅占分析位点总数的1.053%,在碱基组成上大致相同,说明两山羊之间存在着较近的亲缘关系。

(3) 群体间共享单倍型的存在可能源于同一古老单倍型,但是群体近期分歧或者群体间存在一些基因流,也可导致不同群体中出现单倍型共享现象。10种单倍型中有7个单倍型为品种内独享,3个单倍型为两品种共享,说明2个山羊群体既是独立的品种,同时其间也存在基因交流。

(4) 衡量一个群体 mtDNA 变异程度的两个重要指标是

单倍型(基因)多样性(H值)和核苷酸多样性(π 值)。单倍型多样性是指样本中随机抽取到两个不同单倍型的频率;H值和 π 值越小,群体的多态程度越低,遗传多样性越贫乏。该试验所得贵州白山羊和湖南马头山羊的单倍型多样性分别为0.889%和0.808%;核苷酸多样性分别为0.253%和0.243%,说明2个山羊品种线粒体DNA多态度为中等^[3],可能是长期以来农户散养,混群放牧,基本没涉及选种选配定向培育的原因。

(5) 关于山羊的野生祖先,弗伦奇认为,西南亚胃石山羊可视为大部分家养山羊的野生祖先^[4]。查瓦多夫斯基也认为胃石山羊和马尔哥尔山羊是家山羊最近的族属。谢成侠^[5]和《中国羊品种志》编写组^[6]认为,家山羊的野生祖先有角呈镰刀状的羯羊和角呈螺旋状的羯羊两种野生种。它们起源于欧洲和亚洲大陆,并且认为现有山羊的主要发源地在我国西南部边疆西藏及邻近的中亚西亚地区。达尔文认为山羊都是从亚洲山地的角羯传下来的,可能还同印度羯有过混血的情形^[7]。该试验从基于遗传距离及平均核苷酸差异度分别构建的不同品种羊的系统发生树中均可看出贵州白山羊与湖南马头山羊同聚一类,并都起源于西南亚胃石山羊。

参考文献

[1] BIOCHEM GENET, CHEN H, LEIBENGUTH F. Studies on mutinous fingerprints, RAPD markers and mitochondrial DNA of a cytogenetic fish (*Carassius auratus gibelio*) [J]. *Biochem Genet*, 1995, 33: 297 - 306.

[2] STEPHEN A K, DAWN S W. Phylogeography and Systematics of the mud turtle, *Kinosternon baurii* [J]. *The Revolution in Biology*, 2001, 3: 797 - 801.

[3] LAN H, SHI L M. The origin and genetic differentiation of native breeds of pigs in southwest China: an approach from mitochondrial DNA polymorphism [J]. *Biochem Genet*, 1993, 31: 51 - 60.

[4] 弗伦奇. 山羊[M]. 罗马: 联合国粮食及农业组织, 1983.

[5] 谢成侠. 中国养羊羊史(附养鹿简史) [M]. 北京: 农业出版社, 1985.

[6] 涂有仁. 中国羊品种志[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989.

[7] 达尔文. 动物和植物在家养下的变异[M]. 叶晓译. 北京: 科学出版社, 1982: 76 - 77.

(上接第11863页)

逐渐走向电子化、智能化、过程化分析的时代^[15]。所以在啤酒风味物质分析检测领域,一些实力雄厚的大型啤酒企业及国内外学者做了大量研究,建立了一系列以气相色谱技术为核心检测方法,实现了啤酒中主要和一些微量风味物质的检测,并逐渐从单一常规走向多元高效。随着中国啤酒行业的发展以及消费者对啤酒风味、质量要求的提高,制定啤酒中风味物质的定性、定量的标准,建立风味物质的动态检测过程,实现风味形成控制,将是今后发展的趋势。由此看来,多种分离检测技术的综合应用的条件优化及建立准确快捷的啤酒香味组分测定方法,并使其在质量控制中发挥作用将成为下一步研究的重点。

参考文献

[1] 王芙蓉, 张晓鸣, 佟建明, 等. 食品风味分析技术研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2008, 29 (3): 170 - 172.

[2] 王家林, 薛长湖, 付雪艳. 啤酒风味物质及游离脂肪酸的气相色谱研究 [J]. *分析化学研究简报*, 2006, 34 (6): 875 - 878.

[3] 潘学启. 啤酒检测技术与发及应用 [J]. *啤酒科技*, 2004 (2): 6 - 8.

[4] 王志沛, 季晓东, 武千钧. 啤酒中挥发性风味物质的分析及风味评价 [J]. *酿酒科技*, 2001 (4): 59 - 61.

[5] 苗延林, 崔云前. 浅谈啤酒气相色谱分析 [J]. *酿酒*, 2004, 31 (2): 54 - 56.

[6] 宋兴良, 朱化雨. 气相色谱-质谱法分析啤酒中的风味物质 [J]. *食品研究与开发*, 2006, 27 (5): 115 - 116.

[7] 刘春风, 郑飞云, 李永仙, 等. 多级溶剂萃取-气相色谱法测定啤酒中的游离脂肪酸 [J]. *分析实验室*, 2008, 27 (2): 26 - 29.

[8] 苗延林. 气相色谱分析啤酒中风味成分的另一种方法 [J]. *中国酿造*, 2000 (4): 26 - 27.

[9] 王云川, 李红, 刘伟成, 等. 采用气相色谱-质谱分析啤酒中的风味物质 [J]. *食品与发酵工业*, 2004, 30 (11): 90 - 94.

[10] 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, 30 (2): 1 - 5.

[11] 王莉娜, 周伟. 顶空进样-毛细管气相色谱法测定啤酒的香味组分 [J]. *啤酒科技*, 2001 (1): 9 - 11.

[12] 苗延林, 邢朝云, 刘艳. 气相色谱分析啤酒中挥发性有机酸的简单方法初探 [J]. *中国酿造*, 2007 (1): 61 - 63.

[13] 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精香味组分 [J]. *食品与发酵工业*, 2007, 33 (8): 127 - 131.

[14] 粟学刚. 全二维气相色谱法测定啤酒风味成分 [J]. *荆门职业技术学院学报*, 2007, 22 (9): 1 - 5.

[15] 郭凯, 芮汉明. 食品中挥发性风味成分的分离、分析技术和评价方法研究进展 [J]. *食品与发酵工业*, 2007, 33 (4): 110 - 115.