

使用 Agilent PAL3 自动进样器和 5977C GC/MSD 分析啤酒中的醛类



作者

Yufeng Zhang 和 Lay Peng Tan
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了一种使用 Agilent 8890/5977C GC/MSD 与 Agilent PAL3 (SPME) 自动进样器对啤酒中造成异味的四种醛类（己醛、糠醛、苯乙醛和反式-2-壬烯醛）进行定量分析的方法。该方法采用全自动、无溶剂萃取和纤维上衍生化。采用纤维上衍生化方法，使用衍生化试剂 O-(2,3,4,5,6-五氟苄基)羟胺盐酸盐 (PFBHA) 对醛类化合物进行衍生化。首先将衍生化试剂吸附在安捷伦 65 μm PDMS/DVB 纤维上。接下来，将纤维插入含有 2 mL 啤酒样品的 20 mL 顶空样品瓶中，在 60°C 下搅拌 30 分钟。萃取和衍生化过程均使用 PAL3 自动进样器自动完成。该方法展现了优异的灵敏度，己醛的检测限为 0.0009 $\mu\text{g/L}$ ，糠醛的检测限为 0.52 $\mu\text{g/L}$ ，苯乙醛的检测限为 0.015 $\mu\text{g/L}$ ，反式-2-壬烯醛的检测限为 0.003 $\mu\text{g/L}$ 。这四种化合物的定量限分别为 0.003、1.72、0.05 和 0.01 $\mu\text{g/L}$ 。从超市购买的四种啤酒样品中成功测定了这四种醛类的含量。对四种啤酒样品进行三次重复进样，结果显示四种醛类具有良好的重现性，RSD < 4.9%。

前言

醛类化合物是啤酒中的一种关键的化合物，对啤酒的风味和香气有显著的影响。这些挥发性有机化合物即使浓度很低，也会产生不良的感官特性，如纸板味、草味或陈腐味，从而对产品的整体质量和消费者接受度产生负面影响。醛类的存在通常与酿造、包装和储存过程中的氧化有关，使其成为啤酒新鲜度和稳定性的关键指标。¹ 己醛、糠醛、苯乙醛和反式-2-壬烯醛是公认的导致异味的醛类，其风味阈值分别为 350 µg/L、15.157 mg/L、105 µg/L、和 0.1 µg/L。²

因此有必要监测和控制啤酒中的醛类含量，这对于保持产品的一致性和确保高品质的饮用体验至关重要。通过准确定量醛类，酿酒商可以发现生产过程中的潜在问题，例如氧气暴露或成分降解，并实施纠正措施以尽可能减少异味。此外，了解啤酒中的醛类特征有助于开发新的酿造技术和配方，从而提高风味稳定性和保质期。

固相微萃取 (SPME) 是一种广泛使用的无溶剂样品前处理技术，其工作原理是吸附和解吸。该技术使用涂有萃取相的纤维来浓缩样品中的分析物。可以使用各种类型的纤维，包括 PDMS、丙烯酸酯、碳 WR、DVB 以及这些吸附剂的组合，以覆盖分析物的不同极性。SPME 广泛应用于各种分析，包括环境特性、食品和风味分析、药物研究和法医调查。它非常适合自动化样品前处理，不仅能减少每个样品的前处理时间，还能尽可能降低人为错误的风险，并将实验室人员从重复工作中解放出来。

本应用简报演示了使用 PAL3 RTC 进样器与 SPME 工具和 8890/5977C GC/MSD 分析啤酒中的四种醛类化合物的情况。SPME 采样工具自带读写芯片，其中预设了固定相和使用情况追踪等参数。样品萃取和衍生化均通过 PAL3 RTC 进样器自动完成。

实验部分

试剂与样品

醛类标准品（己醛、糠醛、苯乙醛和反式-2-壬烯醛）和衍生化试剂 PFBHA 均购自 Sigma-Aldrich。HPLC 级甲醇购自 Merck。水是 Milli-Q 超纯水。四种不同品牌的啤酒均采购自当地超市。

标准品配制

在甲醇中制备由 10 µg/mL 己醛、10 µg/mL 苯乙醛、1000 µg/mL 糠醛和 1 µg/mL 反式-2-壬烯醛组成的混合储备液。

用超纯水配制由 100 µg/L 己醛、100 µg/L 苯乙醛、10 µg/mL 糠醛、10 µg/L 反式-2-壬烯醛组成的二级混合储备液。

利用二级混合储备液制备一系列校准标样，浓度范围为：己醛 0.05 至 10 µg/L、糠醛 5 至 1000 µg/L、苯乙醛 0.1 至 50 µg/L、反式-2-壬烯醛 0.025 至 5 µg/L。

将每种校准标样各取 2 mL 加入到 20 mL 顶空样品瓶中并立即盖上盖子进行分析。

称取 30.1 mg PFBHA 粉末于 500 mL 容量瓶中，加超纯水溶解并定容至 500 mL，配制浓度为 60 mg/L 的 PFBHA 衍生化试剂。将 10 mL 60 mg/L PFBHA 溶液加入顶空样品瓶中，用于样品衍生化。

样品前处理

分析前将啤酒样品存放在 4 至 6 °C 的冰箱中。将 250 mL 啤酒倒入干净的塑料瓶中并盖上瓶盖。用手摇晃带盖的瓶子五次，然后打开瓶盖释放二氧化碳 (CO₂) 从而对样品脱气。样品脱气共进行三次。将 2 mL 脱气啤酒样品转移到 20 mL 顶空样品瓶中，立即盖上盖子进行分析。

PAL3 RTC 和 GC/MSD 参数

PAL3 RTC 进样器的分析参数如表 1 所示。

表 1. 用于啤酒分析的 Agilent PAL3 自动进样器和 GC/MSD 参数

Agilent PAL3 (SPME)	
纤维头类型	Agilent 65 μ m PDMS/DVB (部件号 5610-5873)
纤维头老化温度	250 °C
预平衡时间	5 min
孵育时间	20 min
孵育温度	60 °C
衍生化时间	10 min
搅拌速度	250 rpm
样品萃取时间	30 min
样品脱附时间	1 min
后老化时间	5 min
气相色谱	
型号	Agilent 8890 GC
气相色谱柱	Agilent J&W DB-5ms UI, 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m (部件号 122-5532UI)
色谱柱气路	恒流
载气	氮气
进样器模式	不分流
分流出口吹扫流量	50 mL/min, 2 min
进样口温度	250 °C
进样口衬管	安捷伦超高惰性不分流衬管 (部件号 5190-4047)
流速	1.2 mL/min
柱温箱升温程序	60 °C (保持 2 min) 以 10 °C/min 升温至 140 °C 以 7 °C/min 升温至 250 °C, 保持 3.0 min
平衡时间	3 min
质谱仪	
型号	Agilent 5977C GC/MSD
离子模式	EI, 70 eV
采集模式	扫描
扫描速度	N = 2
扫描范围	50 至 520 amu
GC 传输线温度	250 °C
离子源温度	230 °C
四极杆温度	150 °C

结果与讨论

化合物鉴定和保留时间确认

在全扫描数据采集模式下分析 10 μ g/L 校准标样，总离子流色谱图 (TIC) 如图 1 所示。

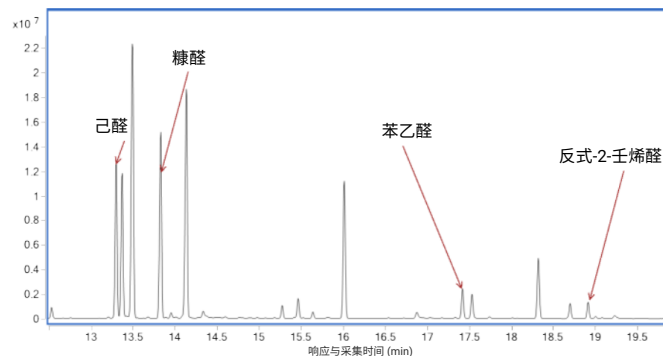


图 1. 采用安捷伦 SPME 纤维上 PFBHA 衍生化方法对 10 μ g/L 醛类进行 TIC 分析

使用 MassHunter 未知物分析软件处理 10 μ g/L 样品的数据文件。使用未知物分析软件对数据进行自动解卷积，以识别样品中独特存在的成分。根据得到的组分列表，通过将其与 NIST 23 光谱库进行库匹配，识别出四种目标醛类，匹配得分超过 80。经过鉴定，四种醛类衍生物的保留时间 (RT) 分别为 13.299、13.830、17.419 和 18.914 分钟 (图 2 至图 5)。

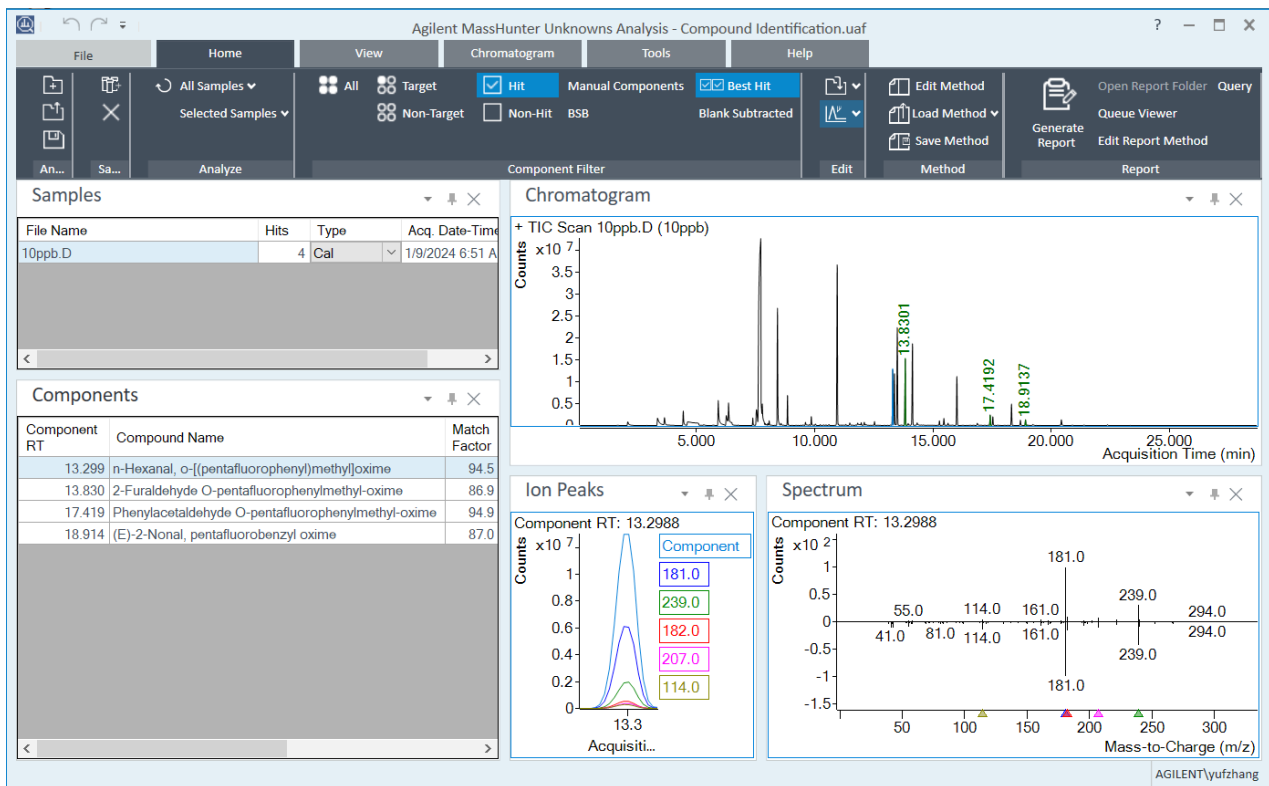


图 2. 鉴定出 RT 为 13.299 分钟的己醛衍生物

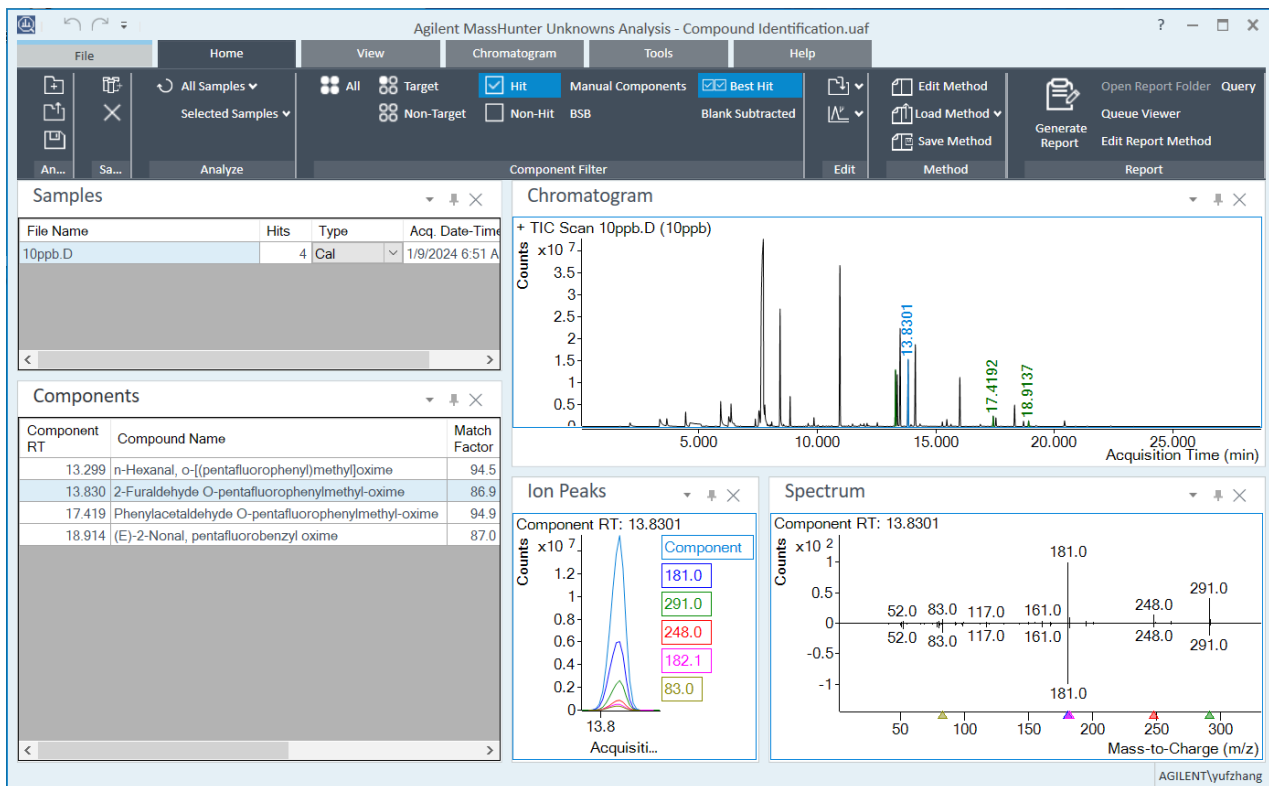


图 3. 鉴定出 RT 为 13.830 分钟的糠醛衍生物

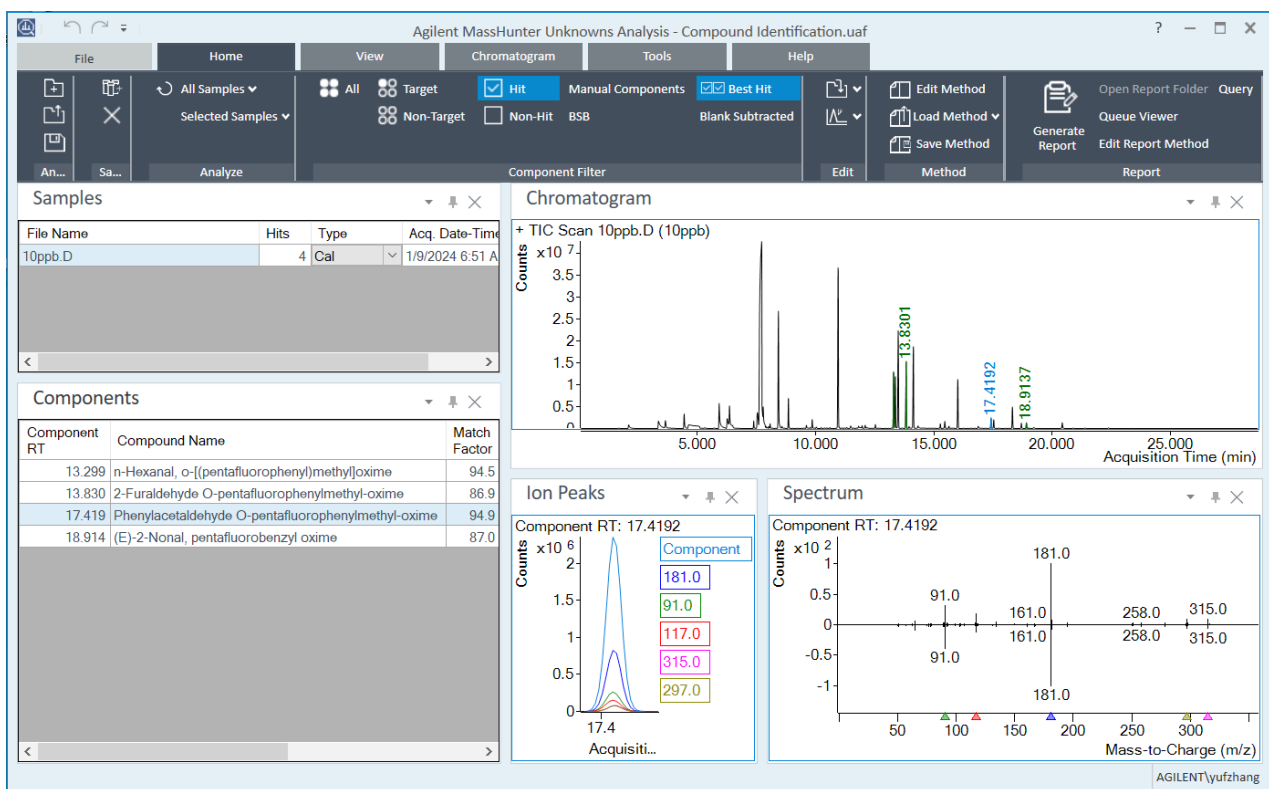


图 4. 鉴定出 RT 为 17.419 分钟的苯乙醛衍生物

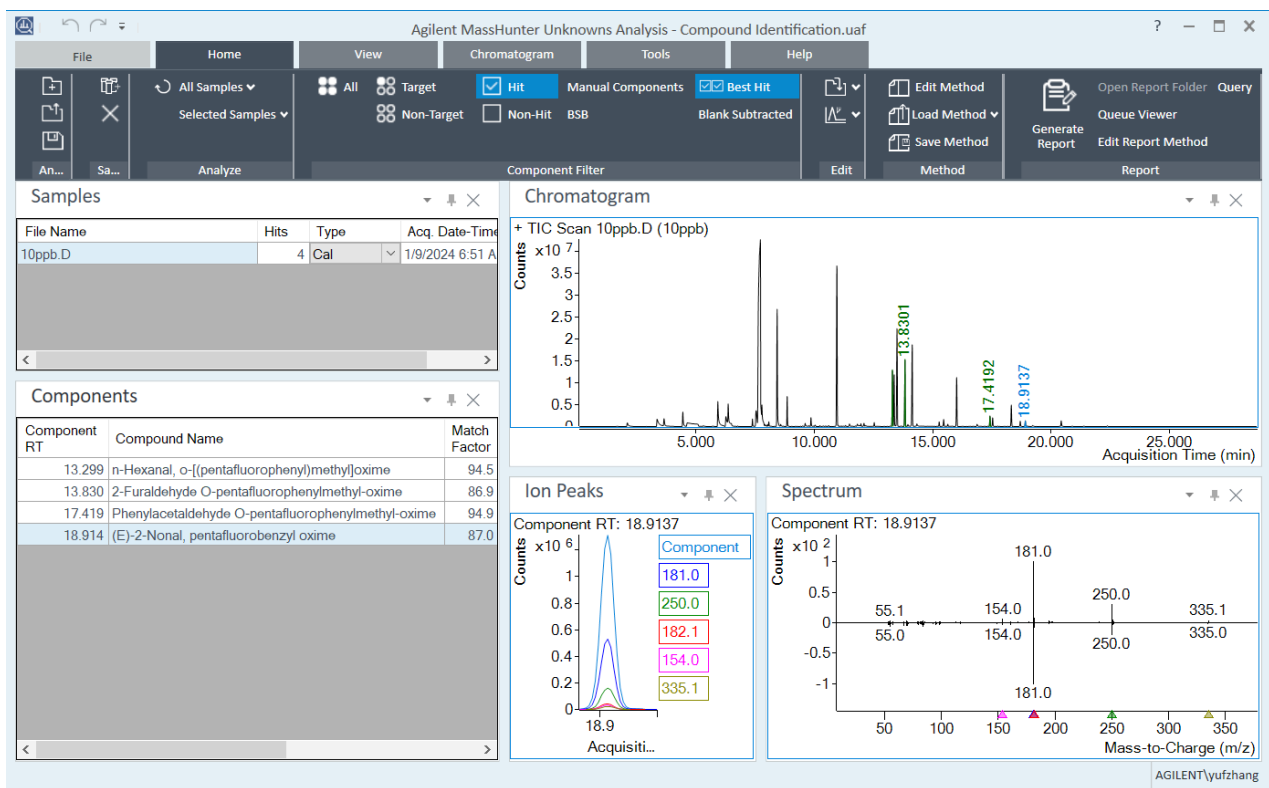


图 5. 鉴定出 RT 为 18.914 分钟的反式-2-壬烯醛衍生物

校准曲线

根据校准标样溶液的响应，绘制了四种醛类衍生物的校准曲线。结果如表 2 和图 6 至图 9 所示。

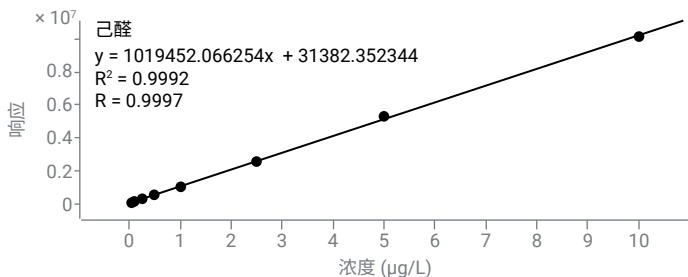


图 6. 己醛 0.05–10 µg/L 的校准曲线 (定量离子: 181; 定性离子: 239, 114)

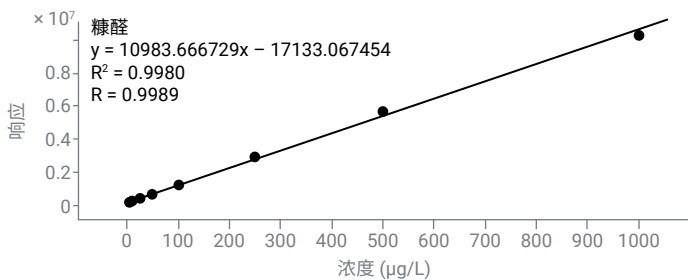


图 7. 糠醛 5–1000 µg/L 的校准曲线 (定量离子: 181; 定性离子: 291, 195)

表 2. 四种醛类的校准范围和 R²

编号	化合物名称	校准范围 (µg/L)	R ²
1	己醛	0.05–10	0.999
2	糠醛	5–1000	0.998
3	苯乙醛	0.1–50	0.996
4	反式-2-壬烯醛	0.025–5	0.998

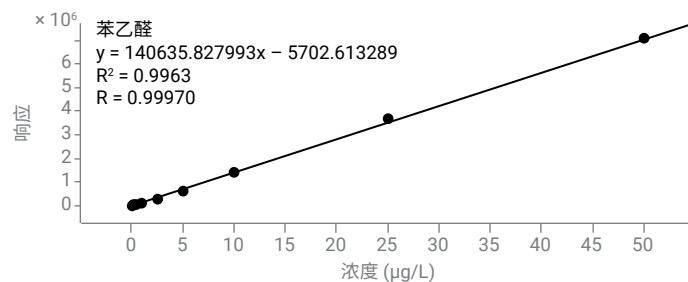


图 8. 苯乙醛 0.1–50 µg/L 的校准曲线 (定量离子: 181; 定性离子: 297, 91)

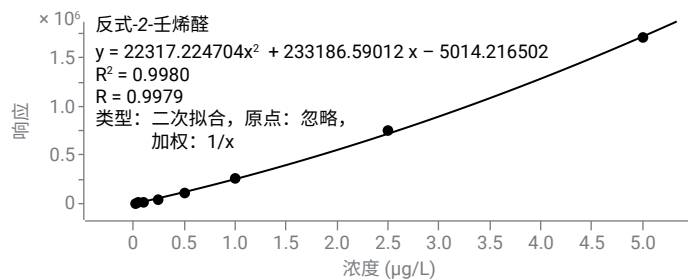


图 9. 反式-2-壬烯醛 0.025–5 µg/L 的校准曲线 (定量离子: 250; 定性离子: 181)

啤酒样品的定量结果

根据建立的校准曲线，对所检测的四个品牌啤酒样品中的四种醛类进行了定量分析。定量结果汇总于表 3 至表 6 中。四种啤酒样品中的所有醛类均低于其各自的风味阈值。所检测的 4 个品牌啤酒样品中，品牌 4 的醛类含量最低，分别为 0.45 µg/L 己醛、6.26 µg/L 糠醛、6.64 µg/L 苯乙醛和 0.031 µg/L 反式-2-壬烯醛。

表 3. 四个品牌啤酒样品中己醛的定量结果

编号	啤酒	己醛浓度 (µg/L)			平均浓度 (µg/L)	浓度 RSD% (n = 3)
1	品牌 1	0.67	0.67	0.69	0.68	1.7
2	品牌 2	1.53	1.54	1.61	1.56	2.8
3	品牌 3	0.99	1.03	1.04	1.02	2.6
4	品牌 4	0.45	0.46	0.45	0.45	1.3

表 4. 四个品牌啤酒样品中糠醛的定量结果

编号	啤酒	糠醛浓度 (µg/L)			平均浓度 (µg/L)	浓度 RSD% (n = 3)
1	品牌 1	18.45	18.75	18.45	18.55	0.9
2	品牌 2	49.46	49.39	52.27	50.37	3.3
3	品牌 3	24.81	26.53	25.04	25.46	3.7
4	品牌 4	6.10	6.37	6.30	6.26	2.2

表 5. 四个品牌啤酒样品中苯乙醛的定量结果

编号	啤酒	苯乙醛浓度 (µg/L)			平均浓度 (µg/L)	浓度 RSD% (n = 3)
1	品牌 1	11.07	10.41	10.05	10.51	4.9
2	品牌 2	8.36	8.26	8.07	8.23	1.8
3	品牌 3	8.72	8.63	8.92	8.76	1.7
4	品牌 4	6.84	6.59	6.48	6.64	2.8

表 6. 四个品牌啤酒样品中反式-2-壬烯醛的定量结果

编号	啤酒	反式-2-壬烯醛浓度 (µg/L)			平均浓度 (µg/L)	浓度 RSD% (n = 3)
1	品牌 1	0.034	0.035	0.034	0.034	1.7
2	品牌 2	0.061	0.063	0.063	0.062	2.8
3	品牌 3	0.034	0.034	0.035	0.034	1.7
4	品牌 4	0.030	0.031	0.031	0.031	1.3

对每个啤酒样品进行三次重复进样，计算出的浓度 %RSD 低于 4.9%。三次重复进样的 EIC 叠加图如图 10 至图 13 所示。

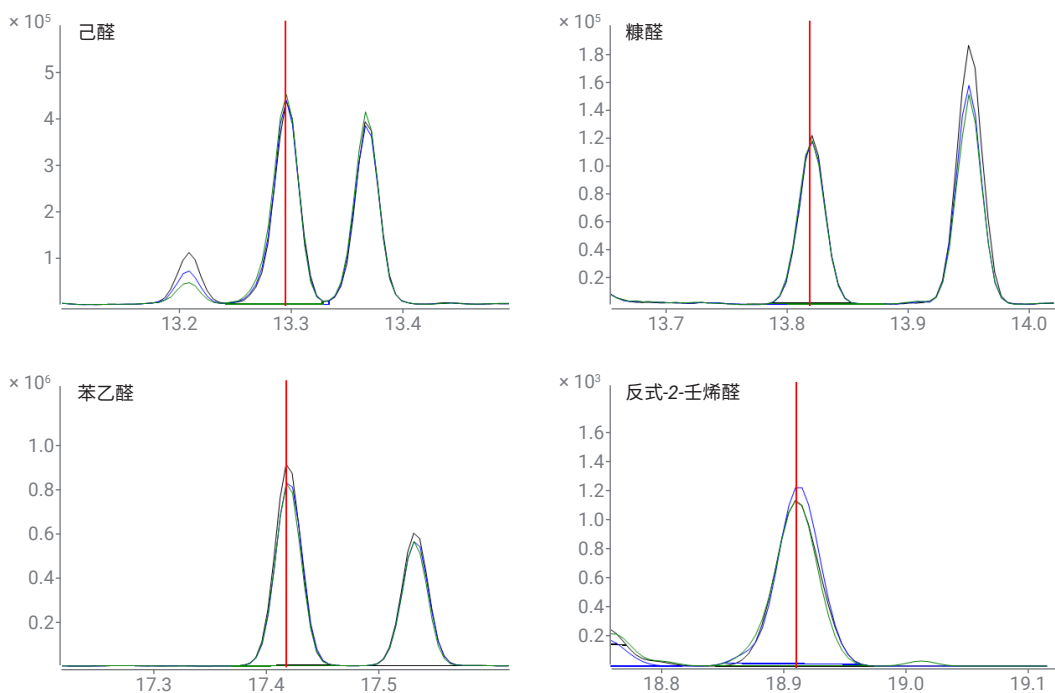


图 10. 品牌 1 啤酒样品中四种醛类的 EIC 叠加图

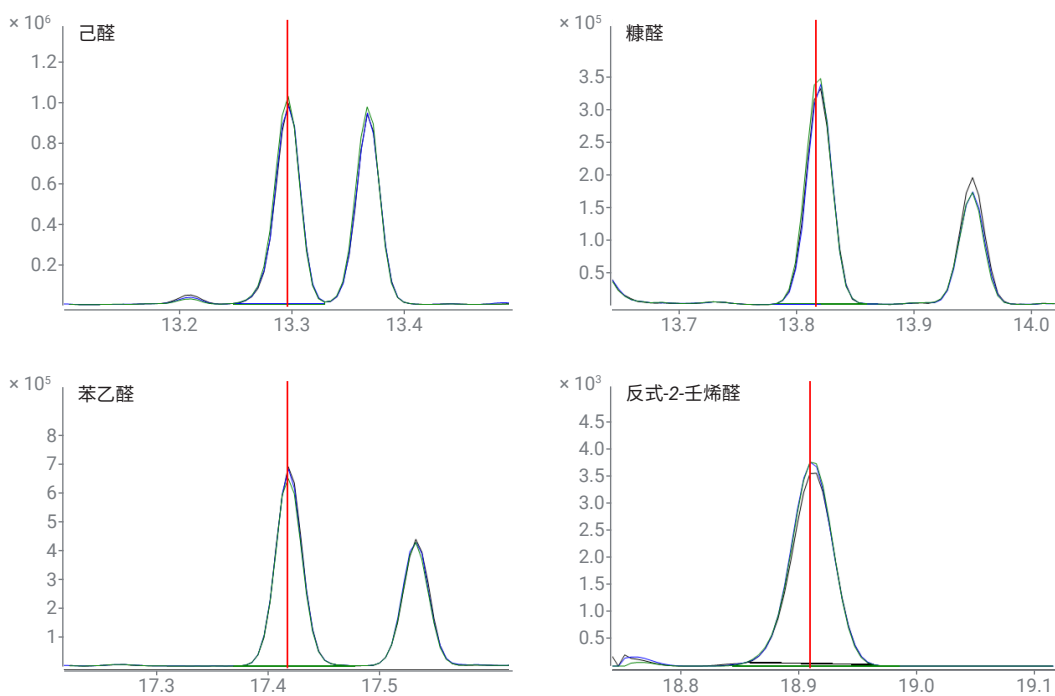


图 11. 品牌 2 啤酒样品中四种醛类的 EIC 叠加图

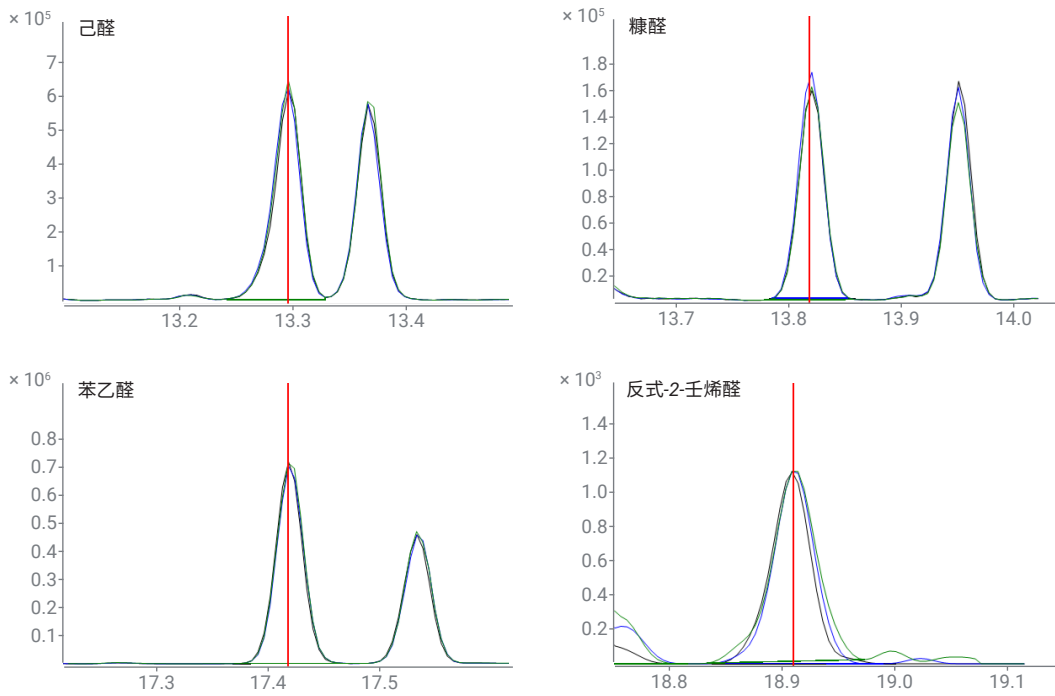


图 12. 品牌 3 啤酒样品中四种醛类的 EIC 叠加图

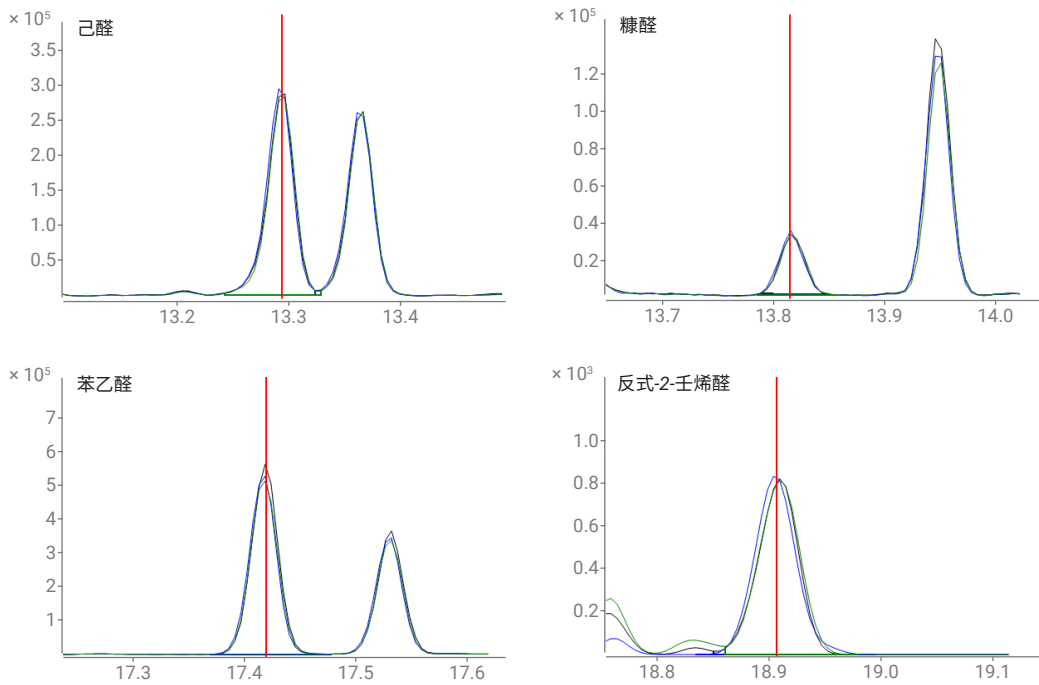


图 13. 品牌 4 啤酒样品中四种醛类的 EIC 叠加图

确定检测限

使用每种化合物的最低校准浓度，计算全扫描模式下的信噪比 (S/N)。定量限 (LOQ) 以 S/N 为 10 确定，检测限 (LOD) 以 S/N 为 3 确定。LOQ 和 LOD 结果汇总于表 7。

表 7. 醛类的 LOQ 和 LOD

醛类	信噪比	LOQ (µg/L)	LOD (µg/L)
己醛 (0.05 µg/L)	161	0.003	0.0009
糠醛 (5 µg/L)	29	1.72	0.52
苯乙醛 (0.1 µg/L)	20	0.05	0.015
反式-2-壬烯醛 (0.025 µg/L)	24	0.01	0.003

结论

本应用简报介绍了使用 PAL3 (SPME) 自动进样器与 Agilent 8890/5977C GC/MSD 对啤酒中造成异味的四种醛类（己醛、糠醛、苯乙醛和反式-2-壬烯醛）进行定量分析的方法。该方法具有全自动化、快速分析、无溶剂萃取和纤维上行生化的优点。该自动化解决方案在用于检测己醛(0.0009 µg/L)、糠醛 (0.52 µg/L)、苯乙醛 (0.015 µg/L) 和反式-2-壬烯醛 (0.003 µg/L) 时展现了出色的灵敏度。对 4 种不同品牌的啤酒进行了分析，其中己醛的检测范围为 0.45 至 1.56 µg/L，糠醛的检测范围为 6.62 至 50.37 µg/L，苯乙醛的检测范围为 6.64 至 10.51 µg/L，反式-2-壬烯醛的检测范围为 0.031 至 0.062 µg/L。对四种啤酒样品进行三次重复进样，结果显示四种醛类具有良好的重现性，RSD < 4.9%。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com/chem/5977c

DE58984949

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2024
2024 年 7 月 18 日, 中国出版
5994-7633ZH-CN

参考文献

1. Aguiar, D.; *et al.* Assessment of Staling Aldehydes in Lager Beer under Maritime Transport and Storage Conditions. *Molecules* **2022**, *27*(3), 600
2. Moreira, M. T. G.; *et al.* Aldehyde Accumulation in Aged Alcoholic Beer: Addressing Acetaldehyde Impacts on Upper Aerodigestive Tract Cancer Risks. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*(22), 14147