

Herb, frisch, hopfig ... – Headspace Festphasenmikrosäulenextraktion bestimmt Aromakomponenten im Bier

Ján Hrivňák a), Daniela Šmogrovičová b), Pavol Nádaský b), Jana Lakatošová a) b)

a) FZ für Pflanzenproduktion Piešťany, Institut für Weinbau und Weinkunde, Bratislava, Slowakische Republik

b) Fakultät für Chemie- und Nahrungsmitteltechnologie, Slowakische TU, Bratislava, Slowakische Republik

Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, www.shimadzu.eu

Diese schnelle Probennahmetechnik eignet sich zur Analyse von Aromastoffen in Bier. Das Headspace-Volumen (10 ml) wird durch eine mit 5 mg Tenax TA-gefüllten Mikrosäule geleitet und thermisch in einem modifizierten GC-Einlasssystem desorbiert. Acht Verbindungen (von Azetaldehyd bis 2-Phenylethanol) wurden in vier Bierproben analysiert. Korrelationskoeffizienten (r^2), Reproduzierbarkeit (RSD) und Nachweisgrenzen (LOD) betragen jeweils 0,9973 - 0,9994, 2,1 - 6,9 % bzw. 0,00002 - 0.13 mg/l. Die Methode ist nützlich bei der Routineanalyse von Bierproben.

Einführung

Die Aromastoffe im Bier leisten den Hauptbeitrag für die Qualität des Endprodukts – ihre Analyse ist daher wichtig. Eine Vielzahl von Aromen können sich abhängig von der Biersorte und den Lagerbedingungen bilden. Daher sind zuverlässige und empfindliche Analysentechniken nötig zur Extraktion und Untersuchung der Vielzahl von Verbindungen – von den sehr flüchtigen bis zu den hoch-siedenden. Verschiedene Extraktions-/Konzentrationsverfahren wurden zur Analyse von flüchtigen Bierbestandteilen eingesetzt. Die Headspace-Festphasenmikroextraktion (HS-SPME) ist eine einfache, schnelle, empfindliche und lösungsmittelfreie Technik, die eine gleichzeitige Durchführung von Extraktions- und Konzentrierungsschritten möglich macht [2-5]. Allerdings erweist sich die HS-SPME-Technik unter Verwendung einer Spritze mit Faser oder der Lösungsmittelextraktion als ungeeignet zur Analyse sehr flüchtiger Aromastoffe, insbesondere des Azetaldehyds aufgrund seines stechenden Geruchs.

Headspace-Festphasenmikrosäulenextraktion (HS-SPMCE) ist ein geeignetes analytisches Werkzeug für sehr flüchtige sowie für hoch-siedende Substanzen. Bei flüchtigen Bestandteilen wurde die HS-SPMCE erfolgreich zur quantitativen Analyse von Vinylchlorid in Wasser [6], Chloroform im Urin [7] und Benzol in der Luft [8] eingesetzt. Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, die Leistungsfähigkeit der HS-SPMCE zur quantitativen Analyse von leicht-flüchtigen wie auch hochsiedenden Aromastoffen in Bier in einem GC-FID Lauf zu demonstrieren.

Instrumentierung und Chromatographiebedingungen

Zur Analyse wurde ein 100-ml-Aliquot der Bierprobe schnell in einen Kolben mit einem Volumen von 500 ml überführt, der 20 g Natriumchlorid (NaCl) enthielt. Der Kolben wurde manuell kräftig bei Raumtemperatur ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) geschüttelt. Nach 10- bis 15-minütiger Gleichgewichtseinstellung

wurden 10 ml der Headspace-Gasphase entnommen. Das Headspacegas der Spritze wurde sofort durch die Mikrosäule (1 mm Ø, gepackt mit 5 mg des 60 - 80 mesh Tenax TA) gedrückt. Die geladene Mikrosäule wurde zum modifizierten GC-Einlasssystem überführt. Die adsorbierten Aromastoffe wurden bei 10 kPa durch Erhitzen der Mikrosäule auf 230 °C für 1 min desorbiert. Nach der Desorption wurde der Druck des Trägergases auf 60 kPa erhöht und das Temperaturprogramm gestartet. Während der Analyse verblieb die Mikrosäule im GC-Einlass. Die Analysen wurden mit einem Shimadzu GC-14 mit FID durchgeführt, wobei der Liner gegen einen Liner für Mikrosäulen ausgetauscht wurde.

Säule: VF-WAX ms-Kapillarsäule, Länge 30 m × 0,25 Ø × 0,5 µm Schichtdicke (Varian, Lake Forest, CA, USA).
Temperaturprogramm: 30 °C (4 min), 5 °C/min bis 200 °C und halten für 10 min.
Injektortemperatur: 230 °C
Trägergas: Helium

Ergebnisse und Diskussion

Azetaldehyd, Azeton, Methylazetat (stellvertretend für sehr flüchtige Verbindungen) und Hexan-, Octan-, Decansäureethylester und 2-Phenylethanol (stellvertretend für hoch-siedende Aromakomponenten im Bier) wurden ausgewählt, um die Vielseitigkeit und Tauglichkeit der neuen HS-SPMCE-Technik zu bestätigen. Zur quantitativen Analyse wurden fünf Eichkurven über folgende Konzentrationsbereiche erfasst:

- von 1 mg/l bis 10 mg/l im Fall von Azetaldehyd
- 0,1 mg/l bis 1 mg/l von Azeton, Methylazetat, Hexan-, Octan- und Decansäureethylester
- 2 mg/l bis 20 mg/l von Ethylazetat und
- 1 mg/l bis 50 mg/l von 2-Phenylethanol in 4-%igem (V/V) Ethanol.

Mischung	r ²	LOD (mg/l)	LOQ (mg/l)	SD % (n = 5)
Acetaldehyd	0,9989	0,039	0,24	4,9
Aceton	0,9983	0,011	0,070	5,7
Methylacetat	0,9991	0,003	0,022	4,1
Ethylacetat	0,9993	0,001	0,0068	2,9
Ethylhexanoat	0,9993	0,0002	0,0015	3,2
Ethyl octanoat	0,9994	0,0004	0,0028	2,1
Ethyldecanoat	0,9991	0,001	0,0066	3,7
2-Phenylethanol	0,9973	0,13	0,79	6,9

Tabelle 1: Korrelationskoeffizienten (r²), Nachweisgrenzen (LOD), Quantifizierungsgrenzen (LOQ) sowie Reproduzierbarkeit (RSD) der untersuchten Analyten

Die Korrelationskoeffizienten (r^2) sind in Tabelle 1 aufgelistet und variierten von 0,9983 bis 0,9996. Die Reproduzierbarkeit der Methode (RSD) lag im Bereich von 2,1 bis 6,9 %. Die Nachweis- (LOD) und Quantifizierungsgrenzen (LOQ) wurden mit dem Adstat Calibration Program (Trilobite, Tschechische Republik) berechnet und zeigten gute Empfindlichkeiten für die Analyse von Realproben.

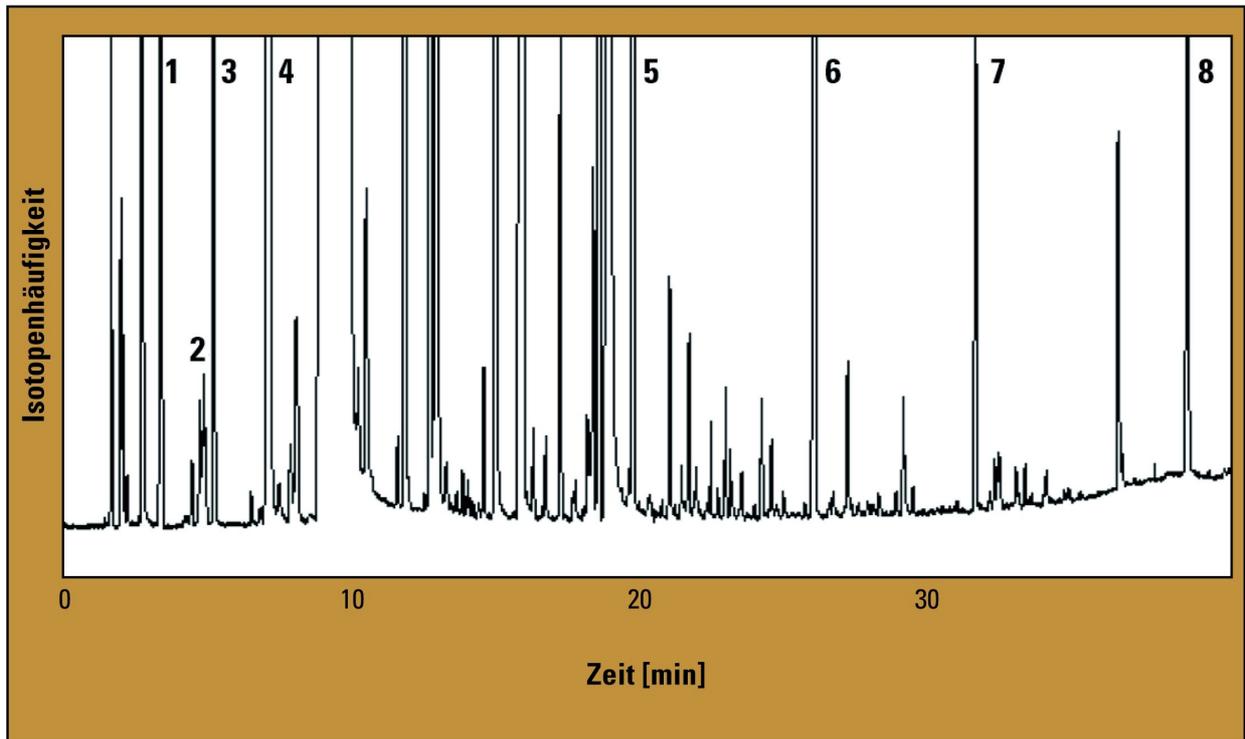


Abbildung 1: Chromatogramm einer Bierprobe

Mischung	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Acetaldehyd	5,14	4,26	6,11	3,86
Aceton	0,12	0,093	0,15	0,093
Methylacetat	0,13	0,94	0,14	0,11
Ethylacetat	10,1	9,41	12,1	13,3
Ethylhexanoat	0,11	0,10	0,16	0,12
Ethyl octanoat	0,31	0,34	0,33	0,33
Ethyldecanoat	0,079	0,13	0,087	0,37
2-Phenylethanol	10,3	11,4	13,3	11,8

Tabelle 2: Vier Analysenergebnisse (mg/l) der auf Aromen untersuchten Bierproben

Als Beispiel ist ein Chromatogramm der Bierprobe Nr.1 in Abbildung 1 wiedergegeben; es finden sich 19 Peaks aus den sehr flüchtigen und 94 aus den höher-siedenden Verbindungen. Die Ergebnisse der quantitativen Analyse von vier Proben (Mittelwert von zwei Messungen) sind in Tabelle 2 aufgelistet. Diese Ergebnisse weisen auf relativ geringe Abweichungen in den analysierten Proben bezüglich der Zusammensetzungen der untersuchten Verbindungen hin. Die vorgeschlagene Technik lässt sich für die Analyse von Realproben nutzen. Die Modifikation des GC-Einlasses für die thermische Desorption in der Mikrosäule erweist sich als kostengünstig und ersetzt eine teure thermische Desorptionseinheit.

Schlussfolgerungen

HS-SPMCE ist eine einfache, schnelle und empfindliche Technik für die Routineanalyse von Aromastoffen in Bierproben. Aufgrund der guten Reproduzierbarkeit der Methode lässt sich das Verfahren dazu einsetzen, Profile flüchtiger Stoffe in unterschiedlichen Biersorten zu vergleichen, die Entwicklung des Alterungsprozesses eines einzelnen Bieres zu untersuchen oder die Daten mit sensorischen Analyseergebnissen zu korrelieren.

Danksagungen

Diese Arbeit wurde durch die Wissenschaftsförderungsagentur des Bildungsministeriums der Slowakischen Republik und der Akademie der Wissenschaften gefördert.

Literatur

- [1] B. Vanderhaegen, H. Neven, S. Coghe, K. J. Verstrepen, H. Verachtert, G. Derdelincks, J. Agric. Food Chem. 51 (2003) 6782
- [2] C.L. Artur, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 62 (1990) 2145