

以 SPME-GC / MS 分析國產與進口啤酒花 揮發性化合物之差異¹

李允中²、李睿家³、陳信君⁴、黃佳興³

摘 要

啤酒花 (*Humulus lupulus* L.) 是啤酒釀造之重要原料，但不同品種和栽培環境會對啤酒花香氣造成影響。本場自 2021 年推廣國產啤酒花栽培，為了解國產啤酒花香氣組成，本研究利用固相微量萃取法結合氣相層析質譜儀分析 16 種常見進口啤酒花錠與國產啤酒花之揮發性化合物。國產啤酒花共檢出 63 種揮發性化合物，其中 β -Elemene (0.44%)、*epi*-Bicyclosesquiphellandrene (0.1%)、Methyl heptanoate (2.62%)、Heptyl propionate (0.05%)、2-Hexenal (0.14%)、1-Octen-3-ol (0.18%) 及 Nonanal (0.34%) 是進口啤酒花錠中未檢出之化合物。經主成分分析，國產啤酒花與‘Saaz’品種較接近，歸類於香味型啤酒花。本研究初步建立國產啤酒花揮發性化合物指紋圖譜，可提供釀造產業及未來栽培改良之參考。

關鍵字：啤酒花、固相微量萃取法、氣相層析質譜儀

-
1. 農業部花蓮區農業改良場研究報告 310 號。
 2. 農業部花蓮區農業改良場作物改良課研究助理。
 3. 農業部花蓮區農業改良場作物改良課助理研究員。
 4. 中國醫藥大學藥用化妝品學系教授。

前言

啤酒花 (*Humulus lupulus* L.) 為大麻科葎草屬，多年生草本蔓性植物。2020 年全球啤酒花栽培面積為 103,004 ha，總產值為 11.5 億美元 (FAO, 2022)，主要產區為美國、德國、捷克、中國及波蘭等冷涼的溫帶地區 (Kubeš, 2021; Turner *et al.*, 2011)。本場自 2021 年起在中海拔地區與平地推廣小規模栽培。啤酒花為釀造啤酒之重要原料，台灣 2016 年整體啤酒市場銷售推估約 232 億元，精釀啤酒則佔整體市場 1.7%，銷售額約為 4 億元，且有逐年持續增加的趨勢 (龔, 2021)。台灣釀造啤酒之原物料皆來自國外，因此推行國產啤酒花不但能結合‘在地’的元素且能提供新鮮啤酒花，讓台灣精釀啤酒有更多元的發展。

啤酒花球果錐體中的蛇麻腺體 (lupulin gland)，富含精油與樹脂。軟性樹脂中含 α -酸 (alpha-acid)，而藉由精油與 α -酸含量，可將啤酒花分為香味型、兼用型和苦味型，每個類型有其適合的釀造風味 (Duarte *et al.*, 2020)。 α -酸為現行啤酒花品種分類與品質檢測的重要指標，為啤酒釀造提供特有的苦味 (Almaguer *et al.*, 2014)。啤酒花精油約佔球果重 0.5~3%，能在釀造後賦予啤酒香味，包含了許多揮發性化合物，如酯類、酮類及醛類等，其中以萜類化合物佔比最高 (約 80%) (Eyres and Dufour, 2009)，月桂烯 (β -myrcene)、石竹烯 (β -caryophellene) 和蛇麻烯 (humulene) 三種萜類化合物為精油中的主要成分，總含量大約佔精油中的 60~80%，是構成啤酒花主要香氣 (hoppy) 的成分 (Kishimoto *et al.*, 2005)。各品種內的精油化合物組成與濃度皆不相同，化合物彼此間也會有加乘、削減、遮蔽的複雜交互作用，造就許多獨特的香氣，如木質、辣木、柑橘、花朵、青草及甜香等 (Dietz *et al.*, 2020)。

作物受品種、環境及栽培處理造成香氣和風味的不同 (Polatoglu, 2013)，在評鑑時容易會有人因差異 (human factors) 與嗅覺偵測限制造成不客觀的現象 (Liu *et al.*, 2018)。因此藉由化學分析方法建立化合物指紋圖譜尤為重要，其中氣相層析質譜儀搭配固相微量萃取法 (SPME-GC/MS) 已被許多研究用於分析啤酒花揮發性化合物的組成差異 (Duarte *et al.*, 2020; Kishimoto *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2018; Stashenko *et al.*, 2010)。利用作物層析指紋圖譜 (chromatographic fingerprinting) 建立化合物組成的系統性資料，再以主成分分析法 (principal components analysis, PCA) 分析，能夠更有效且精確的分析品種差異或品質檢測 (Cuadros-Rodríguez *et al.*, 2016; Hakimzadeh *et al.*, 2014; Rettberg *et al.*, 2018)。因此，本研究利用 SPME-GC/MS 建立國產啤酒花之層析指紋圖譜，並與 16 個不同品種進口啤酒花錠進行分析比對，期望能提供國產啤酒花未來釀造策略參考。

方法材料

一、試驗材料

本試驗之國產啤酒花 (HDARES) 樣品，係於花蓮縣秀林鄉採收新鮮啤酒花樣品，經冷凍乾燥後於 -20°C 保存。進口啤酒花錠選取 16 種常用品種 ('Amarilo'、'Bravo'、'Cascade'、'Cashmere'、'Centennial'、'Citra'、'El dorado'、'Golding'、'Magnum'、'Mittelfrüher'、'Mosaic'、'Saaz'、'Simcore'、'Tradition'、'Willamete' 和 'Zeus') 皆購於零售商 (金鼎豐興業)。分析方法使用之試驗藥劑與標準品皆購於 Sigma 試藥商。

二、揮發性化合物樣品製備

啤酒花揮發性化合物樣品前處理使用固相微量萃取法萃取，並參考 Stenerson (2018) 方法進行修改，SPME 纖維則採用 50/30 μm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane 材質 (DVB/CAR/PDMS,

Supelco)。將 3 冷凍乾燥啤酒花樣品或市售啤酒花錠劑利用震盪均質機震盪後過 30 目篩網，取 0.2 g 樣品至 20 ml 頂空瓶中於 40°C 平衡 20 min。利用 SPME 纖維萃取 20 min，於 270°C 進行脫附 3 min 進樣。每次試驗樣品進行三重複分析。樣品加入頂空瓶後之步驟皆由自動進樣器 (PAL3, Agilent, USA) 完成。

三、氣相層析質譜儀分析

揮發性化合物分析使用氣相層析質譜儀 (GC8890/MSD5977B, Agilent, USA) 進行分析，管柱為 Equity-1 (60 m×0.25 mm×0.25 mm, Supelco)，載氣為 5N 氦氣。分析條件：進樣口溫度 270°C，氣體流速 1 ml min⁻¹，分流比 1:5。烘箱溫度條件為 60°C 維持 5 min，60~275°C 以 5°C min⁻¹ 升溫，275°C 維持 5 min。質譜儀離子源溫度 230°C，四級桿溫度 150°C。質譜掃描範圍 40-500 m/z，每秒掃描 1.524 次，離子化能量為 70 eV。

四、揮發性化合物之定性定量分析

透過 C₇-C₃₀ 烷烴標準品之滯留時間 (RT) 依 Kovats 保留指數公式計算出化合物之滯留指數 (RI)。GC/MS 之分析資料經由 Masshunter Unknowns Analysis 軟體結合 NIST20 資料庫進行質譜比對。經公式計算出該化合物之滯留指數後與 NIST 資料庫比對。綜合質譜分析和滯留指數資料庫比對後，得到化合物之定性結果。定量則以標準品之檢量線公式計算樣品中化合物含量，進而依照離子豐度 (ion abundance) 推算其他化合物之相對定量。z 值是 n-烷烴的碳數，T_{rt} 是該化合物的滯留時間。T_{rz} 是依該化合物出峰之前一個 n-烷烴的滯留時間，而 T_{r(z+1)} 是化合物出峰之後一個 n-烷烴的滯留時間。

$$RI = 100z + \frac{[T_{rt} - T_{rz}]}{[T_{r(z+1)} - T_{rt}]}$$

五、統計分析

統計分析由 SigmaPlot 14.0 及 XLSTAT 軟體進行分析。

結 果

一、國產啤酒花揮發性成分分析

國產啤酒花 (HDARES) 於 8 月採收，採收後將樣品冷凍乾燥並進行 SPME-GC/MS 分析。圖一為國產啤酒花 SPME-GC/MS 層析圖譜，經資料庫比對後共檢測出 63 種揮發性化合物 (表一和表二)。萜烯類有 27 個，離子豐度為 78.64%；酯類有 18 個，離子豐度為 6.28%；酮類 4 個，離子豐度為 2.25%；醇類有 8 個，離子豐度為 1.75%；醛類有 3 個，離子豐度為 0.64%；含氧類化合物有 3 個，離子豐度為 0.07%。根據分析結果，其中主要 C₂₀、C₆₉、C₇₂、C₇₈、C₈₁ 化合物分別的氣味為柑橘、胡椒、木質、草本、樹脂，推估國產香味應為木質、柑橘、青草香氣。

二、揮發性化合物組成差異

比較國產啤酒花與 16 種進口啤酒花錠 SPME-GC/MS 總偵測面積（圖二），國產數值是介於‘Saaz’與‘Golding’之間。進一步分析，國產啤酒花與進口啤酒花錠揮發性化合物組成差異（表一和表二僅列出四種常用進口啤酒花錠分析結果）。有 33 種化合物普遍存在於每個品種中，含量約為 78.07%，顯示國內所生產之啤酒花揮發性成分與進口啤酒花大致相同。此外，有 7 個化合物是進口啤酒花未檢測出之化合物，總含量約為 3.88%，分別為 β -Elemene、*epi*-Bicyclosesquiphellandrene、Methyl heptanoate、Heptyl propionate、2-Hexenal、1-Octen-3-ol 和 Nonanal。

（一）萜類

萜類是所有化合物當中占比最高的一類，其中又以 β -Myrcene（柑橘香）、 β -caryophellene（辣木香）、 β -humulene（草本香）為主要化合物，這三種萜類在國產啤酒花所有萜類中佔約 70%，進口啤酒花大約佔比在 66~80%。此外，*cis*- β -Farnesene（木質、草本、柑橘）在國產啤酒花含量約在 3.3%，而進口啤酒花大約佔比在 0~6%，以‘Amarillo’、‘Saaz’和‘Willamete’三種品種擁有較高的含量，而這些品種常被歸類為香味型啤酒花。國產啤酒花有進口啤酒花未檢測到之萜類則有 β -Elemene（草本）和 *epi*-Bicyclosesquiphellandrene，含量為 0.44%與 0.10%。

（二）酯類

大部分酯類特徵為水果及花朵香氣。國產啤酒花酯類相對含量為 6.28%，而進口啤酒花佔比範圍為 1.8~12.9%。Isopentyl isobutyrate、2-Methylbutyl isobutyrate 和 Methyl geranoate 因可溶性高是啤酒釀造過程中會被保留下來的香味物質（Janish, 2021; Vollmer and Shellhammer, 2016），代表性氣味為蘋果與杏桃香。在國產啤酒花中的含量分別為 0%、0.7%和 0.03%，比例上相較於進口啤酒花錠較低。此外，國產啤酒花有進口啤酒花錠未檢測到之酯類，Methyl heptanoate（水果香）和 Heptyl propionate（杏桃香），含量分別為 2.62%與 0.05%，其中 Methyl heptanoate 被認為會存於新鮮啤酒花中（Féchir *et al.* 2022）。

（三）醇類與醛類

國產啤酒花在醇類化合物含量較進口啤酒花錠低，醛類化合物含量則較高。而這類比例的差異，除了品種間差異，推測可能與採收後處理有關。醇類與醛類在總化合物佔比較低，國產啤酒花含量分別為 1.75%和 0.64%，而進口啤酒花錠含量範圍是 2.51~5.66%和 0~0.09%。醇類化合物中的 Linalool 和 Geraniol 有研究指出與啤酒中的果香與花香有高度的代表性，為啤酒香氣的重要指標，這兩個化合物因具有氫氧基團能增加水溶性，會在釀造過程中被保留下來，並可由其他化合物轉化而提升（Féchir *et al.*, 2022, Rettberg *et al.*, 2018）。國產啤酒花在此兩種化合物的含量分別為 0.47%和 0%，而進口啤酒花錠範圍是 0.84~3.89%和 0~1.41%。有別於進口啤酒花錠。進口啤酒花錠未檢測到之醇類與醛類為 2-Hexenal（清香）、1-Octen-3-ol（泥土香）和 Nonanal（橘皮氣味），國產啤酒花含量分別為 0.14%、0.18%和 0.34%。推測 2-Hexenal 可能是由 Hexanol 氧化而來，氣味則由草本轉變為清香。

表一、國產與進口啤酒花錠揮發性化合物之相對含量

Table 1. The relative contents of volatile components in domestic hop (HDARES) and imported hops.

#	RI _C ^y	RI _F ^x	Compounds	Relative percentage (%)				
				HDARES	Amarillo	Bravo	Cascade	Saaz
C1	772	763	1-Pentanol	0.01-0.02 ^y	0.01-0.01	0.01-0.01	0.02-0.02	0.02-0.02
C2	775	766	2-Methyl-2-buten-1-ol	ND ^u	ND	ND	0.14-0.21	ND
C3	788	778	Hexanal	0.12-0.2	0.09-0.09	0.00-0.01	0.01-0.02	0.20-0.25
C4	825	825	2-methylbutyric acid	0.01-0.04	0.13-0.13	0.03-0.04	0.07-0.07	0.38-0.40
C5	831	839	2-Hexenal	0.08-0.19	ND	ND	ND	ND
C6	840	845	(Z)-3-hexen-1-ol	0.37-0.61	0.02-0.02	0.01-0.02	0.00-0.03	0.10-0.10
C7	853	856	1-Hexanol	ND	0.05-0.06	0.07-0.07	0.12-0.12	0.06-0.08
C8	863	852	2-methylbutyl acetate	ND	0.03-0.04	0.02-0.03	0.08-0.09	0.04-0.05
C9	889	869	3-Methylcyclopentyl acetate	ND	0.05-0.05	0.01-0.01	0.01-0.01	0.13-0.14
C10	900	883	Isobutyl isobutyrate	0.18-0.22	0.09-0.10	0.17-0.24	0.70-0.70	0.26-0.27
C11	907	900	Methyl hexanoate	0.18-0.21	0.02-0.03	0.04-0.06	0.13-0.13	0.07-0.07
C12	912	909	Methyl (4Z)-4-hexenoate	ND	ND	ND	ND	0.03-0.03
C13	916	910	5,5-Dimethyl-2(5H)-furanone	ND	0.22-0.22	0.03-0.03	0.04-0.04	0.50-0.53
C14	940	942	α -Pinene	0.05-0.06	0.41-0.49	0.29-0.47	0.29-0.29	0.36-0.40
C15	955	954	Camphene	0.12-0.13	0.19-0.38	0.17-0.24	0.00-0.20	0.15-0.17
C16	957	955	2-Methylbutyl propionate	0.45-0.56	ND	0.30-0.33	0.68-0.70	ND
C17	966	967	1-Octen-3-ol	0.15-0.21	ND	ND	ND	ND
C18	967	968	6-Methyl-5-hepten-2-one	ND	0.21-0.22	0.04-0.04	0.06-0.06	0.48-0.60
C19	980	981	β -Pinene	0.3-0.35	0.83-0.93	0.91-1.34	0.67-0.72	0.81-0.83
C20	986	986	β -Myrcene	21.56-25.18	25.24-27.07	22.76-28.13	18.85-19.64	22.72-23.24
C21	991	991	Isobutyl 2-methylbutyrate	ND	ND	0.12-0.23	0.19-0.20	0.09-0.13
C22	992	989	Isobutyl isovalerate	ND	ND	ND	0.34-0.35	ND
C23	998	996	Isopentyl isobutyrate	ND	ND	0-0.68	1.28-1.31	ND
C24	1002	1001	2-Methylbutyl isobutyrate	0.71-0.82	0.74-0.76	2.65-2.96	3.47-3.66	1.38-1.54
C25	1007	1006	Methyl heptanoate	2.50-2.73	ND	ND	ND	ND
C26	1016	1014	α -Terpinene	0.02-0.03	0.07-0.09	0.07-0.08	0.06-0.07	ND
C27	1019	1020	Cymene	0.01-0.01	0.18-0.20	0.13-0.13	0.04-0.04	0.08-0.10
C28	1029	1030	D-Limonene	0.45-0.53	1.98-2.11	1.95-2.45	1.38-1.44	0.99-1.02
C29	1042	1038	β -Ocimene	0.56-0.65	0.18-0.19	1.42-1.69	1.75-1.83	0.23-0.23
C30	1045	1047	2-Methylbutyl butyrate	ND	ND	0.01-0.02	0.01-0.02	ND
C31	1052	1065	Heptanoic acid	ND	0.05-0.08	0.05-0.06	0.02-0.05	0.10-0.18
C32	1056	1057	γ -Terpinene	0.02-0.03	0.07-0.10	0.14-0.16	0.07-0.09	0.03-0.05
C33	1072	1068	Methyl 6-methyl heptanoate	0.72-0.76	0.03-0.03	0.32-0.32	0.11-0.11	0.06-0.08
C34	1074	1070	2-Nonanone	0.50-0.59	0.13-0.13	ND	0.93-0.95	0.44-0.48
C35	1076	1074	S-Methyl hexanethioate	0.35-0.41	ND	ND	ND	ND
C36	1079	1082	<i>trans</i> -Linalool oxide	0.02-0.04	0.07-0.07	0.02-0.04	0.00-0.02	0.17-0.19
C37	1086	1082	Nonanal	0.33-0.36	ND	ND	ND	ND
C38	1087	1092	Linalool	0.41-0.54	2.44-2.46	1.4-1.45	1.09-1.09	2.61-2.73

# ^z	RI _C ^y	RI _F ^x	Compounds	Relative percentage (%)				
				HDARES	Amarillo	Bravo	Cascade	Saaz
C39	1091	1086	Perillen	ND	0.93-0.95	ND	ND	0.46-0.51
C40	1092	1090	2-Methylbutyl 2-methylbutyrate	ND	ND	1.12-1.17	1.03-1.10	ND
C41	1094	1094	3-Methylbutyl 2-methylbutanoate	0.03-0.05	0.28-0.28	0.49-0.49	1.72-1.83	0.19-0.22
C42	1107	1108	Methyl octanoate	0.69-0.74	ND	0.14-0.14	0.12-0.14	0.06-0.07
C43	1135	1137	Hexyl isobutyrate	0.02-0.04	ND	0.20-0.21	ND	ND
C44	1141	1133	(<i>E</i>)-2,6-Dimethyl-2,7-octadien-1,6-diol	0.02-0.03	0.17-0.17	0.09-0.13	0.02-0.04	0.04-0.05
C45	1148	1165	Octanoic acid	ND	ND	0.05-0.06	ND	ND
C46	1151	1147	Methyl phenylacetate	0.02-0.02	ND	ND	0.02-0.02	ND
C47	1172	1168	Terpinen-4-ol	ND	0.03-0.04	ND	ND	0.03-0.11
C48	1175	1171	2-Decanone	0.40-0.43	ND	ND	0.84-0.86	0.99-1.01
C49	1181	1183	α -Terpineol	0.01-0.02	0.03-0.05	0.03-0.05	0.02-0.03	0.05-0.07
C50	1187	1188	Heptyl propionate	0.05-0.06	ND	ND	ND	ND
C51	1187	1185	2-Decanol	ND	ND	0.04-0.05	ND	0.11-0.11
C52	1206	1206	Methyl nonanoate	0.26-0.28	0.05-0.05	0.07-0.09	0.04-0.06	ND
C53	1214	1208	<i>cis</i> -Geraniol	ND	0.02-0.03	0.01-0.04	0.03-0.03	ND
C54	1220	1221	2-Nonyl acetate	ND	0.01-0.02	ND	ND	ND
C55	1232	1233	Heptyl 2-methylpropanoate	0.06-0.07	ND	0.09-0.11	0.04-0.04	ND
C56	1237	1243	<i>trans</i> -Geraniol	ND	0.24-0.29	0.65-0.76	0.16-0.21	0.00-0.04
C57	1276	1273	2-Undecanone	0.97-1.11	0.41-0.47	0.2-0.26	1.58-1.81	1.62-1.76
C58	1286	1285	2-Undecanol	ND	0.01-0.04	0.15-0.18	0.02-0.02	ND
C59	1303	1302	<i>trans</i> -Methylgeranate	0.03-0.03	0.29-0.32	4.1-4.9	0.75-0.84	0.33-0.35
C60	1306	1307	Methyl decanoate	0.02-0.02	ND	ND	ND	ND
C61	1331	1328	Octyl isobutyrate	0.02-0.03	0.02-0.03	0.11-0.16	0.02-0.04	0.00-0.02
C62	1336	1333	3-Methylbutyl heptanoate	ND	0.01-0.01	0.03-0.04	0.00-0.03	ND
C63	1359	1350	α -Cubebene	0.29-0.31	0.02-0.02	ND	0.05-0.06	0.02-0.03
C64	1361	1360	Geranyl acetate	ND	0.01-0.01	0.08-0.10	ND	ND
C65	1384	1373	Ylangene	0.26-0.28	0.55-0.56	0.78-0.85	0.68-0.68	0.34-0.35
C66	1389	1398	Copaene	0.78-0.84	1.73-1.74	2.48-2.71	2.12-2.12	1.07-1.07
C67	1397	1384	β -Elemene	0.38-0.51	ND	ND	ND	ND
C68	1432	1425	β -Ylangene	ND	ND	ND	ND	0.10-0.14
C69	1435	1428	β -Caryophyllene	15.44-15.6	12.11-12.29	9.77-10.57	14.39-14.43	8.41-8.51
C70	1442	1443	<i>cis</i> - α -Bergamotene	0.93-1.08	1.49-1.57	0.67-0.75	0.67-0.69	2.05-2.06
C71	1450	1450	<i>cis</i> - β -Farnesene	2.96-3.72	6.26-6.54	ND	0.11-0.12	4.44-4.76
C72	1469	1465	Humulene	15.97-16.19	20.58-20.77	11.69-12.87	20.91-20.95	19.20-19.28
C73	1474	1469	(+)- <i>epi</i> -Bicyclosquiphellandrene	0.07-0.13	ND	ND	ND	ND
C74	1478	1475	2-Tridecanone	0.19-0.31	0.19-0.22	0.04-0.05	0.19-0.29	0.45-0.60
C75	1483	1475	γ -Muurolene	1.25-2.51	1.89-2.00	2.50-3.02	2.12-2.23	1.38-1.46
C76	1487	1472	γ -Selinene	0.26-0.4	0.31-0.34	0.51-0.62	0.36-0.38	0.20-0.21
C77	1492	1493	Geranyl isobutyrate	0.04-0.12	0.03-0.04	0.47-0.55	0.08-0.10	ND
C78	1498	1487	β -Selinene	4.87-5.59	0.99-1.06	1.60-2.01	0.98-1.06	0.75-0.78

# ^z	RI ^y	RI ^x	Compounds	Relative percentage (%)				
				HDARES	Amarillo	Bravo	Cascade	Saaz
C79	1503	1499	Epizonarene	0.25-0.34	0.25-0.27	0.58-0.70	0.52-0.56	0.20-0.21
C80	1505	1500	α -Muurokene	ND	0.44-0.48	0.70-0.99	0.53-0.58	0.38-0.40
C81	1507	1501	α -Selinene	5.00-5.79	0.65-0.70	1.13-1.36	0.55-0.61	0.68-0.74
C82	1517	1515	γ -Bisabolene	ND	0.03-0.04	ND	ND	ND
C83	1521	1518	γ -Cadinene	0.63-0.93	1.21-1.31	1.67-2.16	1.43-1.56	1.04-1.15
C84	1524	1518	trans-Calamenene	0.13-0.24	0.28-0.30	0.28-0.33	0.27-0.28	0.38-0.42
C85	1527	1524	δ -Cadinene	1.13-1.59	1.77-1.91	2.7-3.31	2.31-2.52	1.46-1.63
C86	1531	1522	α -Maaliene	0.22-0.32	0.18-0.2	0.39-0.51	0.31-0.34	0.14-0.14
C87	1556	1540	Selina-3,7(11)-diene	ND	ND	0.93-1.05	ND	ND
C88	1585	1584	Geranyl 2-methylbutyrate	ND	ND	0.04-0.05	ND	ND
C89	1591	1584	Caryophyllene oxide	0.02-0.03	0.03-0.04	0.03-0.04	0.01-0.02	0.09-0.22
C90	1603	1599	Humulene epoxide I	0.01-0.01	0.04-0.06	0.01-0.01	0.01-0.01	0.20-0.31
C91	1642	1638	τ -Cadinol	0.05-0.06	0.00-0.05	0.05-0.06	0.02-0.04	ND

^z Numer of components are listed by its retention time.

^y Retention index are calculated by the formula: $RI=100z+[T_{r}-T_{r2}]/[T_{r(z+1)}-T_{r1}]$.

^x Retention index based on NIST database.

^v Data are shown by the ratio of this compound to the TIC. Each compounds are the means of three replicates.

^u The compounds were not detected in samples.

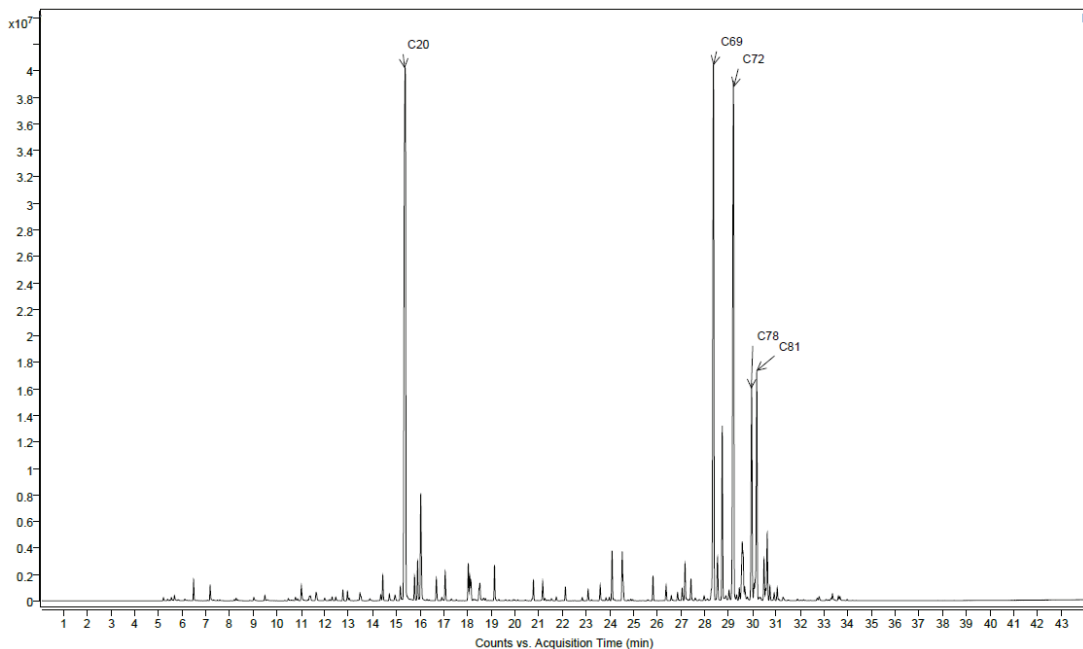
表二、比較國內與進口啤酒花錠揮發性化合物類別

Table 2. Comparison of volatile compounds categories of the domestic hops (HDARES) and imported hops.

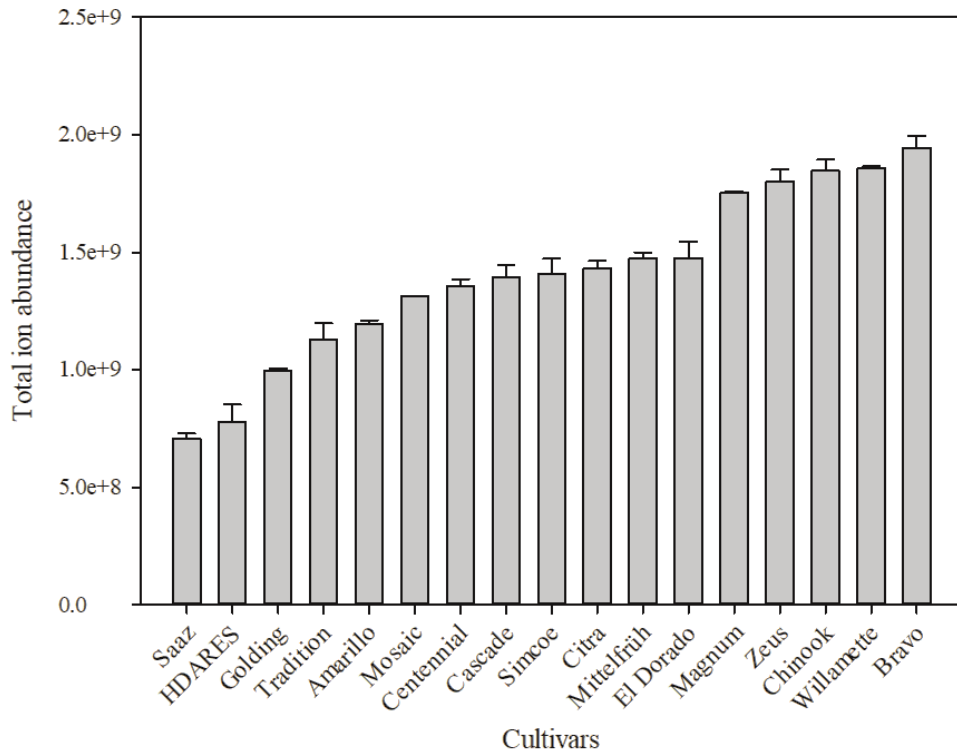
Constituents	HDARES		Amarillo		Bravo		Cascade		Saaz	
	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)
Terpenes	27	78.64	28	82.73	25	72.36	26	72.55	27	68.99
alcohols	8	1.75	14	3.25	14	3.02	14	2.51	12	3.42
Esters	18	6.28	13	1.81	22	11.88	20	10.48	12	3.17
Ketones	4	2.25	5	1.21	4	0.35	6	3.83	6	4.73
Aldehydes	3	0.64	1	0.09	1	0.01	1	0.01	1	0.23
Oxides	3	0.07	3	0.15	3	0.07	3	0.05	3	0.59
Others		10.37		10.77		12.31		10.57		18.89
Total	63	—	64	—	69	—	70	—	61	—
Constituents	Golding		Magnum		Mittelfrüh		Tradition		Willamette	
	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)
Terpenes	26	76.84	25	79.69	24	71.16	28	76.54	29	85.76
alcohols	10	2.80	10	2.07	12	4.19	11	4.52	13	2.88
Esters	15	3.54	19	5.80	17	4.27	18	4.16	18	2.46
Ketones	6	2.84	6	1.58	6	4.50	6	2.48	6	0.97
Aldehydes	1	0.06	0	0.00	1	0.05	1	0.04	1	0.01
Oxides	3	0.22	3	0.09	3	0.56	3	0.11	3	0.07
Others		13.70		10.77		15.27		12.15		7.85
Total	61	—	63	—	63	—	67	—	70	—
Constituents	Zeus		Centennial		Citra		El Dorado		Mosaic	
	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)	Amount	Constituents	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)
Terpenes	27	81.46	24	68.24	27	Terpenes	27	81.46	24	68.24
alcohols	16	3.27	15	5.66	13	alcohols	16	3.27	15	5.66
Esters	13	3.34	20	12.96	21	Esters	13	3.34	20	12.96
Ketones	4	0.37	4	0.41	6	Ketones	4	0.37	4	0.41
Aldehydes	1	0.06	1	0.04	1	Aldehydes	1	0.06	1	0.04
Oxides	3	0.11	3	0.16	3	Oxides	3	0.11	3	0.16
Others		11.39		12.54		Others		11.39		12.54
Total	64	—	67	—	71	Total	64	—	67	—
Constituents	Simcoe		Cashmere							
	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)	Amount	Ratio(%)				
Terpenes	26	72.14	25	73.31						
alcohols	13	2.77	15	2.29						
Esters	23	8.16	19	8.70						
Ketones	6	4.61	6	4.12						
Aldehydes	1	0.02	1	0.01						
Oxides	3	0.05	1	0.01						
Others		12.24		11.55						
Total	72	—	67	—						

三、多變量分析

啤酒花揮發性化合物組成比例利用主成分分析法分析，第一主成分到第三主成分可解釋 81% 的累積變異量（F1、F2 和 F3 分別可解釋 56.53%、13.67% 和 11.48%）（表三）。第一主成分中有絕對值係數較高的化合物為 Humulene（木質香）、 β -Myrcene（柑橘熱帶水果香）和 Geraniol（花香），其中 Humulene 和 β -Myrcene 為占比最高的化合物。顯示第一主成分能先將品種區分為木質香和柑橘香兩大類。第二主成分中有絕對值係數較高的化合物為 α -Selinene 與 β -Selinene，氣味種類皆屬草本香，這兩種化合物在國產啤酒花比例較高，顯示第二主成分區分了國產與進口啤酒花錠的差異性。第三主成分則以 2-Methylbutyl propionate 和 *cis*- β -farnesene 為主要變異係數，氣味種類為果香、木質和草本。*cis*- β -farnesene 僅在四個品種含有較高的比例，顯示第三主成分將果香味、木質和草本的品種做區分。聚合式階層分群分析圖（agglomerative hierarchical clustering, AHC）能將 PCA 分析上分為三個群組（圖三和圖四），可以發現帶有柑橘和熱帶水果香氣的品種被分於在第三和第四象限，而帶有果香、木質和草本香氣的會被分於第一和第四象限（圖四）。國產啤酒花與‘Magnum’、‘Saaz’、‘Amarilo’、‘Tradition’和‘Wilamette’四個品種分為同一群組，其中‘Saaz’、‘Amarilo’、‘Tradition’和‘Wilamette’屬於香味型啤酒花，這類通常帶有木質、草本、花香或果香（表四）。而國產啤酒花因 α -Selinene 與 β -Selinene 的高含量，與這四個品種稍微有所區分。



圖一、國產啤酒花之固相微量萃取法分析之氣相質譜儀總離子層析圖譜
Fig. 1. SPME-GC/MS profiles (TIC) of the domestic hops.



圖二、國產啤酒花與進口啤酒花錠 GS/MS 總離子豐度

Fig. 2. The total ion abundance of GS/MS in domestic hops and imported hops.

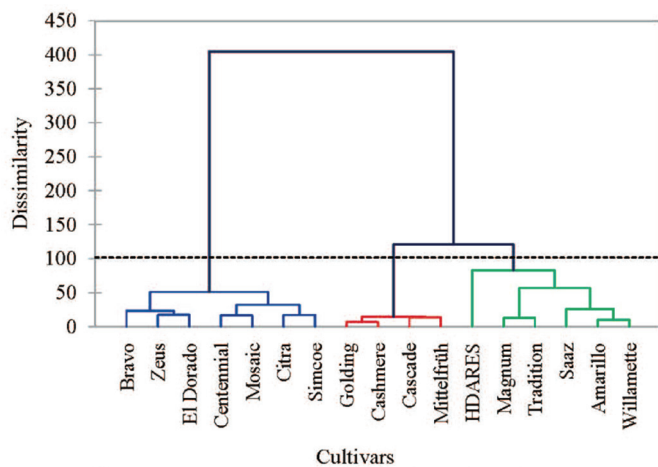
表三、啤酒花之主成分分析累積變異量與各主因子變異係數

Table 3. Cumulative variance and variance coefficient in major factors by principle component analysis for hops.

	Eigenvalue	Cumulative (%)		
F1	30.156	56.533		
F2	7.294	70.206		
F3	6.125	81.688		
Compounds		F1	F2	F3
1-Pentanol		0.175	0.000	0.075
2-Methyl-2-buten-1-ol		0.211	0.001	0.226
Hexanal		0.013	0.083	0.250
2-methylbutyric acid		0.098	0.046	0.109
2-Hexenal		0.001	0.504	0.004
(Z)-3-hexen-1-ol		0.003	0.496	0.016
1-Hexanol		0.083	0.279	0.166
2-methylbutyl acetate		0.004	0.002	0.057
3-Methylcyclopentyl acetate		0.031	0.027	0.198
Isobutyl isobutyrate		0.107	0.000	0.364
Methyl hexanoate		0.015	0.001	0.015
Methyl (4Z)-4-hexenoate		0.009	0.126	0.017
5,5-Dimethyl-2(5H)-furanone		0.170	0.040	0.100
α -Pinene		0.364	0.209	0.054
Camphene		0.419	0.034	0.097
2-Methylbutyl propionate		0.003	0.033	0.683
1-Octen-3-ol		0.001	0.504	0.004
6-Methyl-5-hepten-2-one		0.137	0.011	0.169
β -Pinene		0.303	0.073	0.001
β -Myrcene		0.762	0.066	0.080
Isobutyl 2-methylbutyrate		0.001	0.198	0.529
Isobutyl isovalerate		0.001	0.005	0.374
Isopentyl isobutyrate		0.004	0.009	0.328
2-Methylbutyl isobutyrate		0.005	0.081	0.576
Methyl heptanoate		0.001	0.504	0.004
α -Terpinene		0.260	0.085	0.000
Cymene		0.154	0.266	0.028
D-Limonene		0.514	0.216	0.009
β -Ocimene		0.030	0.112	0.217
2-Methylbutyl butyrate		0.065	0.005	0.321
Heptanoic acid		0.006	0.337	0.003
γ -Terpinene		0.405	0.184	0.004
Methyl 6-methyl heptanoate		0.012	0.422	0.027
2-Nonanone		0.196	0.001	0.158

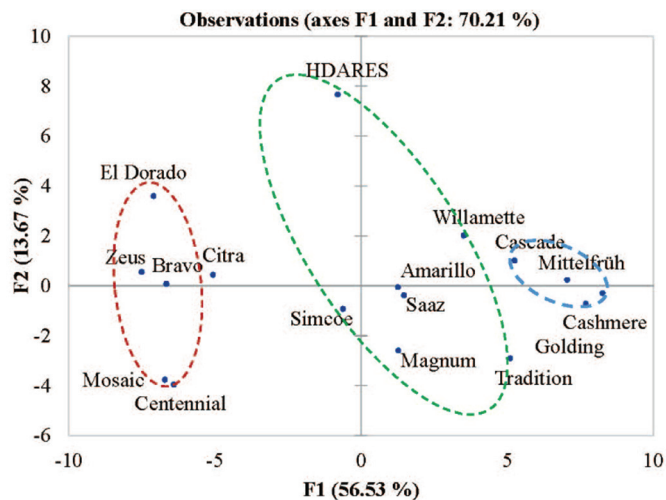
Compounds	F1	F2	F3
S-Methyl hexanethioate	0.001	0.504	0.004
trans-Linalool oxide	0.027	0.016	0.129
Nonanal	0.001	0.504	0.004
Linalool	0.018	0.218	0.108
Perillen	0.057	0.007	0.137
2-Methylbutyl 2-methylbutyrate	0.000	0.033	0.413
3-Methylbutyl 2-methylbutanoate	0.021	0.013	0.363
Methyl octanoate	0.011	0.183	0.021
Hexyl isobutyrate	0.156	0.153	0.035
(E)-2,6-Dimethyl-2,7-octadien-1,6-diol	0.374	0.178	0.066
Octanoic acid	0.231	0.166	0.018
Methyl phenylacetate	0.126	0.238	0.135
Terpinen-4-ol	0.150	0.132	0.243
2-Decanone	0.273	0.003	0.082
α -Terpineol	0.060	0.316	0.041
Heptyl propionate	0.001	0.504	0.004
2-Decanol	0.063	0.119	0.000
Methyl nonanoate	0.036	0.157	0.033
cis-Geraniol	0.216	0.160	0.030
2-Nonyl acetate	0.166	0.019	0.024
Heptyl 2-methylpropanoate	0.002	0.051	0.096
trans-Geraniol	0.609	0.065	0.036
2-Undecanone	0.096	0.051	0.047
2-Undecanol	0.179	0.112	0.012
trans -Methylgeranate	0.351	0.205	0.088
Methyl decanoate	0.072	0.004	0.009
Octyl isobutyrate	0.106	0.129	0.045
3-Methylbutyl heptanoate	0.066	0.252	0.091
α -Cubebene	0.103	0.339	0.000
Geranyl acetate	0.347	0.052	0.018
Ylangene	0.013	0.008	0.040
Copaene	0.001	0.016	0.041
β -Elemene	0.001	0.504	0.004
β -Ylangene	0.004	0.001	0.126
β -Caryophyllene	0.253	0.254	0.049
cis- α -Bergamotene	0.063	0.072	0.543
cis- β -Farnesene	0.038	0.130	0.672
Humulene	0.907	0.054	0.013
(+)-epi-Bicyclosquisphellandrene	0.001	0.504	0.004
2-Tridecanone	0.039	0.035	0.034
γ -Muurolene	0.048	0.191	0.027

Compounds	F1	F2	F3
γ -Selinene	0.028	0.032	0.068
Geranyl isobutyrate	0.418	0.003	0.050
β -Selinene	0.123	0.738	0.003
Epizonarene	0.001	0.074	0.162
α -Muurolene	0.001	0.094	0.043
α -Selinene	0.102	0.737	0.000
γ -Bisabolene	0.027	0.020	0.478
γ -Cadinene	0.003	0.019	0.031
trans-Calamenene	0.312	0.025	0.000
δ -Cadinene	0.004	0.003	0.070
α -Maaliene	0.027	0.195	0.111
Selina-3,7(11)-diene	0.208	0.003	0.003
Geranyl 2-methylbutyrate	0.474	0.032	0.077
Caryophyllene oxide	0.046	0.000	0.017
Humulene epoxide I	0.133	0.009	0.070
τ -Cadinol	0.044	0.017	0.011



圖三、各品種間揮發性化合物相似性之聚合式階層分群分析圖

Fig. 3. Analysis the similarity of volatile compounds composition in different cultivars by agglomerative hierarchical clustering.



圖四、依主成分分析法分析各品種間揮發性化合物相似性

Fig. 4. Analysis the similarity of volatile compounds composition in different cultivars (HDAES- cultivated domestically) by principle component analysis.

表四、進口啤酒花錠品種風味表

Table 4. The table of flavor in imported hops^y.

Group ^z	Cultivars	Type	Origin	Woody	Spicy	Berry	Citrus	Tropical	Floral	Herbal	Grassy	Sweet
1	Golding	Aroma	EU(SI)	○	○					○		
1	Mittefruh	Aroma	EU(GR)	○	○		○			○		
1	Cascade	Dual	US						○	○	○	
1	Cashmere	Dual	US			○	○			○	○	
2	Magnum	Bitter	EU(GR)			○	○					
2	Saaz	Aroma	EU(CZP)	○						○		
2	Amarilo	Aroma	US	○			○					
2	Tradition	Aroma	EU(GR)						○	○	○	
2	Wilamette	Aroma	US	○						○	○	
3	Centennial	Dual	US				○					
3	Citra	Dual	US	○			○	○				
3	El dorado	Dual	US				○	○				○
3	Mosaic	Dual	US				○	○				
3	Simcore	Dual	US				○	○				
3	Zeus	Bitter	US				○					
3	Bravo	Bitter	US				○	○				

^z Data sources were from Yakima Chief Hops (<https://www.yakimachief.com/>).

^y Group number is based on Fig. 4.

討 論

前人研究指出，同一品種於不同地區種植，啤酒花在揮發物組成與釀造風味上會有所差異 (Dabbouswach *et al.*, 2021; Morcol *et al.*, 2020; Su and Yin, 2021)，近年來其他位於亞熱帶地區的國家也開始有嘗試種植啤酒花 (Agehara, 2020; Jastrombek *et al.*, 2022)，但目前尚未有揮發性化合物相關分析，台灣氣候環境與溫帶地區差異甚大，可能使啤酒花揮發性化合物組成改變，進而有不同的氣味。國產啤酒花屬於香味型品種且帶有草本氣味，從主成分分析上，可發現進口啤酒花在第二主成分上是很相近的，而國產啤酒花會被獨立分出。其可能是由栽培環境和採收後處理所致。

國產啤酒花醛類化合物比例較進口啤酒花錠高，而醛類為醇類氧化物，因此推測與採收後處理相關。研究指出不同的採收後乾燥方式（食品脫水機、烘箱、冷凍乾燥）會使啤酒花揮發性化合物組成有所差異，在 52°C 的食品脫水機可以保留較高的香味化合物，其次是冷凍乾燥法 (Rybka *et al.*, 2018)。現行國外使用之技術是以 55~65°C 窯烤的方式乾燥 (Raut *et al.*, 2021;)，與本研究使用冷凍乾燥法進行啤酒花乾燥差異甚大。

除了萜類、酯類、醇類、酮類醛類和氧化物，含硫化合物在啤酒的香氣也扮演著十分重要的角色，這類化合物在啤酒花因含量極低而較難被偵測出來 (Takoi *et al.*, 2016)，其有著低香味閾值 (10 ppb) 的特性，當濃度高時，氣味會變為尿或刺激難聞的氣味。4MMP (4-mercapto-4-methylpentan-2-one) 和 3MH (3-mercaptohexan-1-ol) 分別帶有黑莓與麝香的氣味 (Kishimoto *et al.*, 2008)，這類含硫化合物不但有各自獨特的氣味，更有著氣味加成的效果。會使啤酒花的果香與清新味道更為濃厚。在本研究中並未偵測出此兩類之含硫化合物，未來能朝修改方法或建立一套偵測指標性含硫化合物的方法，改善目前偵測的方法不足。

結 論

綜合結果，推測國產啤酒花屬香味型啤酒花，與‘Saaz’較相似，並帶有木質、柑橘、草本香氣。本研究共偵測到 91 種揮發性化合物，可以建立初步國產啤酒花的揮發性化合物指紋圖譜，提供未來國內啤酒花產業鏈鏈果品質上之參考。

參考文獻

1. 龔正一 2021 以價值鏈分析臺灣本土及進口精釀啤酒市場發展比較之研究 臺灣師範大學高階經理人企業管理碩士在職專班學位論文。
2. Almaguer, C., Schönberger, C., Gastl, M., Arendt, E. K., and Becker, T. 2014. *Humulus lupulus* - a story that begs to be told. A review. *J. Inst. Brew.* 120(4):289-314.
3. Agehara, S. 2020. Using supplemental lighting to control flowering of hops in Florida:HS1365, 4/2020. EDIS, 2020(2). Available from <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/HS1365>.
4. Cuadros-Rodríguez, L., Ruiz-Samblás, C., Valverde-Som, L., Pérez-Castaño, E., and González-Casado, A. 2016. Chromatographic fingerprinting:an innovative approach for food “identification” and food authentication - a tutorial. *Anal. Chim. Acta* 909:9-23.
5. Dabbous-Wach, A., Rodolfi, M., Paolini, J., Costa, J., and Ganino, T. 2021. Characterization of wild corsican hops and assessment of the performances of german hops in corsican environmental conditions through a multidisciplinary approach. *Appl. Sci.* 11(9):3756.
6. Dietz, C., Cook, D., Huisman, M., Wilson, C., and Ford, R. 2020. The multisensory perception of hop essential oil:a review. *J. Inst. Brew.* 126(4):320-342.
7. Duarte, L.M., Amorim, T.L., Grazul, R.M., and de Oliveira, M.A.L. 2020. Differentiation of aromatic, bittering and dual-purpose commercial hops from their terpenic profiles:An approach involving batch extraction, GC-MS and multivariate analysis. *Food Res. Int. (Ottawa, Ont.)* 138(Pt A):109768.
8. Eyres, G., and Dufour, J.P. 2009. Hop essential oil:analysis, chemical composition and odor characteristics. *Beer in health and disease prevention* 239-254.
9. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2022. Electronic on-line database. Available from <http://www.fao.org>.
10. Féchir, M., Weaver, G., Roy, C., and Shellhammer, T. H. 2022. Exploring the regional identity of cascade and mosaic® hops grown at different locations in oregon and washington. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 1-13.
11. Hakimzadeh, N., Parastar, H., and Fattahi, M. 2014. Combination of multivariate curve resolution and multivariate classification techniques for comprehensive high-performance liquid chromatography-diode array absorbance detection fingerprints analysis of *Salvia reuterana* extracts. *J. Chromatogr. A* 1326:63-72.
12. Janish, S. 2021. Dry hop best practices:using science as a guide for process and recipe development. *MBAA T.Q.* 58(1):59-65. Available from <https://www.mbaa.com/publications/tq/tqPastIssues/2021/Pages/TQ-58-1-0402-01.aspx>
13. Jastrombek J.M., Faguerazzi M.M., de Cássio Pierezan H., Rufato L., Sato A.J., da Silva Ricce W., Marques V.V., Leles N.R., Roberto S.R. 2022. Hop:an emerging crop in subtropical areas in brazil. *Horticulturae* 8(5):393.

14. Kishimoto, T., Kobayashi, M., Yako, N., Iida, A., and Wanikawa, A. 2008. Comparison of 4-mercapto-4-methylpentan-2-one contents in hop cultivars from different growing regions. *J. Agric. Food Chem.* 56(3):1,051-1,057.
15. Kishimoto, T., Wanikawa, A., Kagami, N., and Kawatsura, K. 2005. Analysis of hop-derived terpenoids in beer and evaluation of their behavior using the stir bar-sorptive extraction method with GC-MS. *J. Agric. Food Chem.* 53(12):4701-4707.
16. Kubeš, J. 2021. Geography of World Hop Production 1990-2019. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 80(1):84-91.
17. Liu, Z., Wang, L., and Liu, Y. 2018. Rapid differentiation of Chinese hop varieties (*Humulus lupulus*) using volatile fingerprinting by HS-SPME-GC-MS combined with multivariate statistical analysis. *J. Sci. Food Agric.* 98(10):3,758-3,766.
18. Morcol, T.B., Negrin, A., Matthews, P.D., and Kennelly, E.J. 2020. Hop (*Humulus lupulus* L.) terroir has large effect on a glycosylated green leaf volatile but not on other aroma glycosides. *Food Chem.* 321:126644.
19. Polatoglu, K. 2013. 'Chemotypes'- a fact that should not be ignored in natural product studies. *Nat. Prod. J.* 3(1):10-14.
20. Raut, S., vonGersdorff, G.J.E., Münsterer, J., Kammhuber, K., Hensel, O., and Sturm, B. 2021. Influence of pre-drying storage time on essential oil components in dried hops (*Humulus lupulus* L.). *J. Agric. Food Chem.* 101(6):2,247-2,255.
21. Rettberg, N., Biendl, M., and Garbe, L.A. 2018. Hop aroma and hoppy beer flavor:chemical backgrounds and analytical tools-a review. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 76(1):1-20.
22. Rybka, A., Krofta, K., Heřmánek, P., Honzik, I., and Pokorný, J. 2018. Effect of drying temperature on the content and composition of hop oils. *Plant Soil Environ.* 64(10):512-516.
23. Stashenko, E.E., Martínez, J.R., Ruíz, C.A., Arias, G., Durán, C., Salgar, W., and Cala, M. 2010. Lippia organoides chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. *J. Sep. Sci.* 33(1):93-103.
24. Stenerson, K.K. 2018. Headspace SPME-GC/MS analysis of terpenes in hops and cannabis. *Merk Analytix Reporter* 3:9-12. Available from:<https://www.sigmaaldrich.com/PT/en/technical-documents/protocol/analytical-chemistry/solid-phase-microextraction/analysis-terpenes-hops-cannabis>.
25. Su, X., and Yin, Y. 2021. Aroma characterization of regional Cascade and Chinook hops (*Humulus lupulus* L.). *Food Chem.* 364:130,410.
26. Takoi, K., Tokita, K., Sanekata, A., Usami, Y., Itoga, Y., Koie, K., Matsumoto, I., Nakayama, Y. 2016. Varietal difference of hop-derived flavour compounds in late-hopped/dry-hopped beers. *BrewingScience* 69:1-7.
27. Turner, S.F., Benedict, C.A., Darby, H., Hoagland, L. A., Simonson, P., Robert Serrine, J., and Murphy, K. M. 2011. Challenges and opportunities for organic hop production in the United States. *Agron. J.* 103(6):1,645-1,654.
28. Vollmer, D.M., and Shellhammer, T.H. 2016. Influence of hop oil content and composition on hop aroma intensity in dry-hopped beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 74(4):242-249.
29. Yakima Chief Hops, 2022. Electronic on-line database. Available from <https://www.yakimachief.com/>