

【实验研究】

蒸馏酒中甲醇和杂醇油测定的色谱条件优化

湛社霞 卢佑演 张宏 臧李纳 孙世宏

(广东省广州市天河区疾病预防控制中心, 广州 510655)

[摘要] 目的: 研究不同色谱条件对蒸馏酒中甲醇和杂醇油测定的影响, 对干扰甲醇测定的物质进行定性鉴别, 优化色谱分离条件。方法: 比较不同色谱柱的分离效果, 研究不同的色谱条件对甲醇和杂醇油测定的影响, 采用双柱定性和标准加入法对干扰物质进行定性确证。结果: 乙醛干扰甲醇的测定, 两种物质保留时间仅相差 10 s, WAX、FFAP 等毛细管柱无法有效分离甲醇和乙醛, GDX-102 填充柱可有效分离两种物质。结论: GDX-102 填充柱可去除乙醛对甲醇的干扰, 使两种物质完全分离, 色谱条件的变化对杂醇油的测定无明显影响。

[关键词] 气相色谱法; 蒸馏酒; 甲醇; 乙醛; 杂醇油

[中图分类号] O657.7⁺1

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-8685(2011)08-1944-03

Optimization of GC Conditions on determination of methanol and fusel oil in the distilled liquors

ZHAN She-xia, LU You-yan, ZHANG Hong, ZANG Li-na, SUN Shi-hong

(Tianhe Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510655, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the influence of different GC conditions on determination of methanol and fusel oil in the distilled liquors, identify the substances interfering the determination of methanol and optimize the GC conditions. **Methods:** Compare the separation efficiency of different columns and discuss the influence of various GC conditions on the determination of methanol and fusel oil. Use double column qualitative and standard addition method to identify the interfering substance. **Results:** Methanol was interfered by acetaldehyde and could not be separated by WAX / FFAP capillary column. The difference in retention time is only 10 seconds between acetaldehyde and methanol. The packed column GDX-102 can separate them by optimizing GC conditions. **Conclusion:** The packed column GDX-102 can eliminate the disturbance of acetaldehyde to methanol and separate these two substances completely. Meanwhile, the change of chromatographic conditions does not obviously affect the determination of fusel oil.

[Key words] Gas chromatography; Distilled Liquors; Methanol; Acetaldehyde; Fusel Oil

酒中的甲醇(CH_3OH) 毒性极强, 可危害人体的神经系统, 中毒症状表现为头痛、恶心、视力模糊, 严重时导致失明。有不法商家为了谋取利益, 采用工业酒精勾兑白酒, 致使其中含有大量甲醇。

高度蒸馏酒中甲醇和杂醇油的国标测定方法为填充柱气相色谱法^[1], 具有方法简便、灵敏、重现性好等特点。近年来, 很多研究人员采用毛细管柱测定酒中的甲醇和杂醇油, 应用强极性的聚乙二醇柱(WAX)^[2]和硝基对苯二酸改性的聚乙二醇柱(FFAP)^[3], 获得较为满意的结果。

气相色谱法测定蒸馏酒中的甲醇和杂醇油虽然方法简单, 但在实际检测工作中, 采用 GDX-102 和毛细管柱极易出现甲醇严重超标的异常情况, 可能有干扰物质干扰甲醇的测定, 要获得可靠、准确的实验结果, 有一定难度。鄢盛华^[4]等研究了乙醛对甲醇的影响, 但仅用 2 种物质的保留时间定性, 且采用手动积分, 存在一定误差, 研究不够深入; 夏小乐^[5]等

研究了黄酒中的乙醛和杂醇油的测定方法, 但没有讨论甲醇和乙醛之间的相互影响; 邢秀英^[6]等研究了 WAX 柱对甲醇、乙酸乙酯、己酸乙酯的分离情况; 徐天源^[7]等研究了填充柱测定饮料酒中的甲醇和甲醛的测定方法。但是对蒸馏酒中干扰甲醇测定的干扰物质以及色谱条件的影响, 均没有全面、详细的研究和报道。

本文研究详细了甲醛、乙醛、乙酸乙酯等多种物质对甲醇测定的影响, 采用双柱定性、标准加入法确定干扰组分, 并深入研究了不同的色谱条件对测定蒸馏酒中甲醇、杂醇油的影响, 优化色谱检测条件, 以期提供有效、真实的研究数据和测定条件, 获得高效、准确的结果。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

HP 6890 气相色谱仪(惠普公司); GDX-102 填充柱(2 m × 4 mm, 天津博瑞健合色谱技术有限公司); HP-FFAP 毛细管色谱柱(30 m × 0.32 mm ϕ 0.32 μm , 安捷伦公司); HP-WAX 毛细管色谱柱(30 m × 0.32 mm ϕ 0.32 μm , 安捷伦公司); HP-

[作者简介] 湛社霞(1975-), 女, 硕士, 副主任技师, 主要从事理化检验工作。

5 毛细管色谱柱(30 m × 0.32 mm, 0.32 μm, 安捷伦公司); RTX-1701 毛细管色谱柱(30 m × 0.32 mm, 0.32 μm, Restek 公司)。

无水乙醇(优级纯,广州化学试剂厂,经色谱鉴定无杂峰);标准物质:甲醇、乙醛、乙酸乙酯、乙酸甲酯、甲酸乙酯、甲酸、异丁醇、异戊醇,均为天津光复化工厂,色标。

1.2 仪器条件

柱流量 30 ml/min; 气化室温度: 190℃; 检测器温度: 190℃; 程序升温: 起始 170℃, 保持 3 min, 50℃/min 至 220℃, 保持 10 min。

1.3 测定方法

1.3.1 标准曲线的绘制 于 5 ml 容量瓶中, 加入少量 60% 的乙醇水, 称量, 分别加入 3 滴色谱纯甲醇、异丁醇、异戊醇、乙醛、甲酸、乙酸乙酯、乙酸甲酯、甲酸乙酯, 准确称量, 由差值计算待测物质的含量, 此为标准贮备溶液。用标准贮备溶液配制标准系列, 测定各标准应用液的浓度, 以测得的峰面积对各物质的浓度(mg/100 ml) 绘制标准曲线。

1.3.2 样品测定 用测定标准系列的操作条件测定样品, 以保留时间定性, 峰面积定量, 由标准曲线得各物质的浓度(mg/100 ml)。

2 结果与讨论

2.1 干扰物质的鉴定

2.1.1 干扰甲醇测定的杂质峰 在测定蒸馏酒中甲醇及杂醇油时, 采用 GDX-102 柱, 柱温为 190℃ 时, 测定多份样品, 发现样品中的甲醇含量均超过国家标准, 其色谱图如图 1(a) 所示, 在乙醇溶剂前甲醇的峰比较大; 参考有关文献报道, 实验分别采用了 FFAP 和 WAX 毛细管柱进行分离测定, 色谱图如图 1(b) 和 (c) 所示, 甲醇的峰形较好, 但样品中甲醇的峰面积无明显变化, 仅以保留时间定性, 很容易将色谱图中所示的峰误认为甲醇的色谱峰, 从而产生错误的结果。

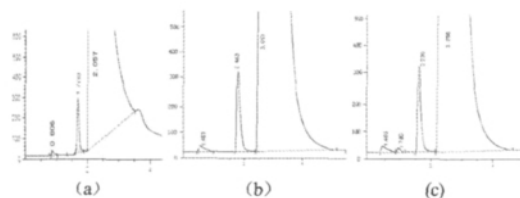


图 1 样品在不同色谱柱上甲醇的分离色谱图

2.1.2 双柱定性法鉴别乙醛对甲醇的干扰 实验采用双柱定性的方法以确认干扰物质的种类, 即如果两种物质在不同极性的柱子出峰时间都一致, 可以认为这两种物质是同种物质。

实验采用弱极性的 HP-5 柱子和强极性的 FFAP 柱分别对甲醇、乙醛、甲酸乙酯、乙酸甲酯、乙酸乙酯五种可能干扰甲醇的物质进行测定, 结果显示, 甲醇和乙醛在两根柱子上的保留时间一致, 乙醛干扰甲醇的测定, 其它四种物质和甲醇在两根柱子上的保留时间不同, 不干扰甲醇的测定。有文献^[4]采用手动积分测量, 得出乙醛和甲醇的保留时间相差仅 4 s, 本实验确证甲醇和乙醛的峰相差 10 s。对色谱条件进行优化, 可以有效分离甲醇和乙醛。

2.1.3 标准加入法鉴别乙醛对甲醇的干扰 为了进一步确定乙醛对甲醇的干扰, 实验采用加标的方法, 在样品中分别加

入一定量的乙醛、甲醇、甲酸乙酯、乙酸乙酯、乙酸甲酯的标准品, 结果显示乙醛干扰甲醇的测定, 其它物质的保留时间和甲醇的保留时间不同。

2.2 色谱条件对甲醇、乙醛和杂醇油分离的影响

2.2.1 色谱柱的影响 针对甲醇和乙醛的化学性质, 分别采用了甲基聚硅氧烷、聚乙二醇成分的毛细管柱和高分子聚合物填充柱进行实验, 结果表明, 甲基聚硅氧烷及其改性柱(HP-5, RTX-1701) 不能分离甲醇和乙醛, 2 个峰重叠在一起, 峰形不好; 聚乙二醇柱(WAX) 和改性聚乙二醇柱(FFAP) 毛细管柱也不能有效分离 2 种物质, 易产生甲醇的假阳性结果, 但对异丁醇和异戊醇的分离效果很好, 杂醇油峰形尖锐, 分离度很好。试验分别用内径 0.25 mm、0.32 mm 和 0.53 mm 的柱子进行测定, 柱子的内径对分离无明显的影响, 改变柱流量均可调整各个物质的保留时间。采用 GDX-102 柱进行测定, 调整升温程序和柱流量, 可有效分离甲醇、乙醛和杂醇油, 结果表明: 多种毛细管柱不能有效分离甲醇和乙醛, 但均可用于测定异丁醇和异戊醇; GDX-102 可有效分离甲醇、乙醛和杂醇油, 但是异丁醇和异戊醇的峰形没有毛细管柱好。

2.2.2 升温程序的影响 毛细管的升温程序: 对 FFAP、WAX、HP-5, RTX-1701 柱的升温, 分别从 30℃、40℃、50℃、60℃、80℃ 开始升温, 保持 3 min, 以 5℃/min, 升至 185℃, 保持 5 min。起始温度影响甲醇和乙醛的峰, 温度太高, 甲醇和乙醛的峰不能分离, 与乙醇溶剂峰太接近, 峰形不好, 30℃ 时, 甲醇和乙醛的峰可以分离, 但是分离度不好, 且有拖尾。升温速率影响杂醇油的峰形, 目标温度从 160℃ ~ 220℃ 之间, 杂醇油都可获得理想的峰形。

填充柱的升温程序: 当采用国标中的恒定温度时(190℃), 乙醛和甲醇分离度不好, 杂醇油的峰形不理想, 尝试采用程序升温。试验分别从 120℃、140℃、150℃、160℃、170℃、180℃、200℃ 开始对 GDX-102 柱进行升温, 温度太低, 甲醇和乙醛峰有拖尾, 温度太高, 出峰时间快, 2 种物质不能完全分离, 170℃ 时甲醇和乙醛分离效果最好。有效分离甲醇和乙醛后, 对柱子进行程序升温, 实验结果表明: 采用 50℃/min 的速率对柱子进行快速升温, 升至 220℃, 保留 10 min, 杂醇油可获得满意的分离结果, 升温速率太慢, 乙醇的拖尾严重, 影响杂醇油的峰。升至 220℃ 保留 10 min, 可使样品中的杂质被完全吹扫出来, 不会影响下一个样品的分析, 保留时间太短, 样品中的其他物质干扰下一个样品的分析, 保留时间太长, 样品分析时间太久。

2.2.3 柱流量的影响 柱流量影响物质的分离度和保留时间, 经过试验, 改变毛细管柱的柱流量, 对甲醇和乙醛的分离无明显影响; 当 GDX-102 柱流量为 20 ml/min 时, 峰有拖尾, 分析时间长; 柱流量为 30 ml/min 时, 分离效果好; 柱流量为 40 ml/min 时, 其分离效果和 30 ml/min 无明显差异。本实验选择柱流量为 30 ml/min。

采用上述的色谱条件: 柱流量 30 ml/min; 气化室温度: 190℃; 检测器温度: 190℃; 程序升温: 初始 170℃, 保持 3 min, 50℃/min 至 220℃, 保持 10 min, 可获得理想的标准品分离色谱图, 样品的甲醇、乙醛和杂醇油的色谱分离图如图 2 所示。经过实验比对, 样品中甲醇和乙醛的峰面积之和与未分离的峰面积相差 10%, 基本保持一致。

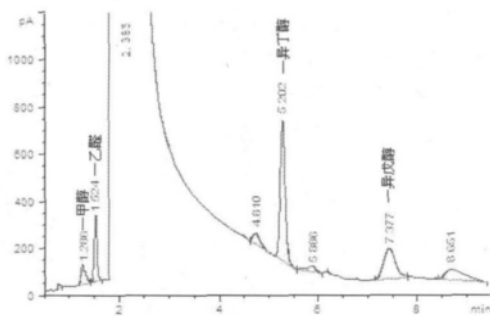


图 2 白酒中甲醇、乙醛和杂醇油的色谱分离图

2.3 方法的相关系数、精密度和准确度

采用本实验所确定的分析条件,甲醇、乙醛和杂醇油有良好的线性关系,相关系数均可达 0.999;

在样品中加入一定浓度的标准品,进行测定,计算回收率和相对标准偏差。加标实验结果如表 1 所示,4 种物质的回收率在 90% ~ 110% 之间,加标样品的相对标准偏差在 0.5% ~ 2.2% 之间。

表 1 方法加标回收率及相对标准偏差

名称	样品浓度 (mg/100 ml)	加入量 (mg/100 ml)	测定值 (mg/100 ml)	回收率 (%)	相对标准 偏差(%)
甲醇	0.0324	0.020	0.0492	93.89	1.88
		0.050	0.0798	96.84	
乙醛	0.0635	0.040	0.106	102.42	0.95
		0.100	0.159	97.25	
异丁醇	0.112	0.050	0.155	95.68	0.50
		0.100	0.223	105.19	
异戊醇	0.0625	0.050	0.118	104.89	2.20
		0.100	0.163	100.31	

(上接第 1943 页)

所以这种情况对抗菌产品试验几乎没有影响。本报告的离体猪皮消毒模拟现场试验细菌减少率相对较低,但与在体试验结果有较好的相关性,通过统计分析计算可以获得在体皮肤实验的数据。实验结果同时显示,猪皮之间细菌减少的数量没有统计学显著性差异,比在体皮肤试验的差异性小,通过数据统计分析,可以建立离体模型和在体模型之间数据关联性,离体猪皮有望用于抗菌剂对皮肤消毒作用的研究以及预测临床研究。

离体仿真皮消毒模拟试验与在体皮肤试验结果相近,同时仿真皮消毒试验的结果重复性和再现性良好,操作简单可控,省时,对防止交叉感染有重要意义,在消毒产品的效果评估中可以替代在体皮肤模拟现场试验。

在消毒或抗菌产品的研发生产过程中,需采用多种在体方法对产品对皮肤消毒效果进行评估,如在体皮肤消毒模拟现场试验,在体消毒模拟现场试验受到时间、人员、菌种致病性和伦理的限制。离体模型为检测相关产品对皮肤消毒的效果提供了一种简便的方法。

[参考文献]

[1] Horn WA, Larson EL, McGinley KJ, et al. Microbial flora on the

2.4 样品中乙醛的含量

抽取 20 份高度白酒(52 度以上)进行检测,所有样品均含有乙醛,含量高于 0.06 g/100 ml,乙醛是酒在发酵过程中的一种副产品,由酵母发酵生成或乙酸菌合成^[8]。酒中的乙醛属低毒类物质,是乙醇毒性的 10 倍,对人体主要危害是刺激皮肤和粘膜,使人流泪,浓度高时有麻醉作用,经常饮用乙醛高的白酒,对人健康不利,容易成瘾。

3 小结

通过试验和深入的探讨可知,优化气相色谱条件,可以有效分离白酒中的甲醇和乙醛,去除干扰,使测定结果更准确可靠。目前,由于白酒中的乙醛含量还没有卫生标准,无法进行卫生评价,而高度酒中乙醛含量高的现象比较普遍,这不仅干扰甲醇的测定,而且会影响酒的质量及饮酒者的身体健康。建立健全蒸馏酒中醛类卫生检验标准,保障人民身体健康,势在必行。

[参考文献]

[1] GB/T 5009.48-2003. 蒸馏酒及配制酒卫生标准的分析方法,食品卫生检验方法 理化部分(一) [S].
[2] 鲁冬梅,严春荣,普伟民. 毛细管气相色谱法测定白酒中的甲醇、杂醇油[J]. 云南化工, 2009, 36(8): 48-51.
[3] 刘跟生,林爱杰,张兆波. FFAP 毛细管柱直接进样测定自酿白酒中甲醇[J]. 酿酒, 2010, 37(3): 71-72.
[4] 鄢盛华. 白酒测定中甲醇与乙醛峰的正确判别[J]. 中国公共卫生, 1998, 14(2): 106-107.
[5] 夏小乐,夏梅芳,杨海麟等. 气相色谱法测定清爽型黄酒中的乙醛和杂醇油含量[J]. 酿酒, 2010, 37(6): 72-74.
[6] 邢秀英,邢亚男. 气相色谱法检测白酒中的醇、酯,品牌与标准化[J]. 品牌与标准化, 2010, 16(4): 47-48.
[7] 徐天源,张暖民. 气相色谱法同时测定饮料酒中的甲醇和甲醛[J]. 卫生研究, 1999, 28(9): 292-293.
[8] 魏运平,赵光鳌. 葡萄酒酿造中乙醛的形成及其重要作用[J]. 酿酒科技, 2003, 3(3): 77-78.

(收稿日期: 2011-05-09)

hands of health care personnel: differences in composition and antibacterial resistance [J]. Infect. Con - trol Hosp. Epidemiol, 1988, 9(5): 189-193.
[2] Mouthon L, Mainardi J. Vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the Gram-positive challenges [J]. Curr Opin Infect Dis, 1996, 9(2): 256-260.
[3] Larson EL. Prevention and Control of Nosocomial Infections [M]. Williams and Wilkins, Baltimore, 1993: 450-459.
[4] ASTM E 1174-94, E1115-91, E1173-93. Annual Book of ASTM Standards [S].
[5] Bush LW, Benson LM, White JH. Pig skin as a test substrate for evaluating topical antimicrobial activity [J]. J Clin Microbiol, 1986, 24(3): 343-348.
[6] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范 [M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2002: 55-58.
[7] Chapman SJ, Walsh A, Beckett E, et al. A fully differentiating epidermal model with extended viability: development and partial characterization [J]. J Invest Dermatol, 1989, 93(6): 762-768.

(收稿日期: 2011-04-07)