

顶空固相微萃取-气相色谱法测定酒中的甲醇和杂醇油

刘红河, 黎源倩, 孙成均

(四川大学华西公共卫生学院, 四川 成都 610041)

摘要 采用环氧树脂作为固相涂层制作固相微萃取(SPME)装置,建立了顶空固相微萃取-气相色谱法(HS-SPME-GC)测定酒精饮料中甲醇和杂醇油的方法,并对萃取条件和色谱条件进行了优化。方法的检出限为 0.02 mg/L ~ 0.04 mg/L,相对标准偏差为 1.4% ~ 4.1% ;与顶空气相色谱法相比,灵敏度可提高 20 倍 ~ 300 倍。将该法用于啤酒、葡萄酒和保健酒中的甲醇和杂醇油的测定,加标回收率为 80.8% ~ 110.3% ;与顶空气相色谱法(国家标准方法)进行了比较,相对误差不大于 7.3%。该法简便、快速、灵敏、精密度好,拓宽了 SPME 的应用范围。

关键词 固相微萃取;气相色谱;甲醇;杂醇油

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2002)01-0090-04

Determination of Methanol and Fusel Oils in Alcohol Beverages Using Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography

LIU Hong-he, LI Yuan-qian, SUN Cheng-jun

(West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: A method for the determination of methanol and fusel oils in alcohol beverages using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography (HS-SPME-GC) is presented. The solid phase was a coated epoxy resin. The extraction and chromatography conditions were optimized. Limits of detection were 0.02 mg/L - 0.04 mg/L and relative standard deviations were in the range of 1.4% - 4.1% . The proposed method showed better sensitivity in comparing with direct headspace gas chromatography(HS-GC ,the National Standard method). This method was applied to evaluate real samples. The spiked recoveries in beer, wine and functional alcohol samples ranged from 80.8% to 110.3% for methanol and fusel oils. The results by HS-SPME-GC and HS-GC for alcohol samples coincided very well. The proposed method is simple, fast and accurate with high reproducibility, high sensitivity and low cost. It extends the applications of SPME.

Key words: solid-phase microextraction; gas chromatography; methanol; fusel oil

酒是人们日常生活中常见的饮料之一。酒中所含甲醇和杂醇油(包括丙醇、丁醇、戊醇等)能与有机酸结合成酯,使酒具有独特的香味,但又有一定的毒性,因此我国食品卫生标准规定了酒中甲醇和杂醇油的限量^[1]。

测定酒中甲醇和杂醇油常用的方法主要有比色法和气相色谱(GC)法^[2],比色法操作比较繁琐且不能测定单一组分,气相色谱法除蒸馏酒外都需蒸馏后才能分析,在蒸馏过程中可能会造成某些易挥发成分的损失而导致结果偏低。采用顶空固相微萃取(HS-SPME)与 GC 联用分析挥发性成分,可将样品萃取、富集和进样结合起来,大大提高分析速度和方

法灵敏度^[3]。SPME 与 GC 联用已用于药物和环境分析^[4~6],但在卫生检验中的应用报道较少。因环氧树脂有热稳定性好、涂渍性能优良等优点,本文将环氧树脂用于制作固相微萃取的萃取涂层,自行制作固相微萃取装置,样品不需要前处理,直接采用 HS-SPME-GC 对酒精饮料中的甲醇和杂醇油进行了测定,并对方法的性能指标进行了考察,取得了满意的结果。

1 实验部分

1.1 仪器设备及试剂

GC-9A 气相色谱仪(日本岛津),带有火焰离子

收稿日期 2001-07-13

作者简介 刘红河,男,1970 年生,硕士,检验师,现在深圳市卫生防疫站理化检验科工作。

通讯联系人 黎源倩,女,1946 年生,电话(028)5501303, E-mail liyuanqian@hotmail.com。

基金项目 国家自然科学基金资助项目(批准编号 30070678)

化检测器,涂有 6.6% PEG-20M 的石墨碳黑不锈钢填充柱(2 m × 4 mm i. d.);石英光导纤维(成都西门子光纤公司);微量注射器;100 mL 具塞顶空瓶;电热恒温水浴箱;电热磁力搅拌器;电子分析天平。所用试剂除注明外均为分析纯,实验用水为重蒸水。

1.2 操作步骤

1.2.1 混合标准溶液的配制 称取甲醇 0.023 9 g、异丙醇 0.033 6 g、正丁醇 0.041 9 g、异丁醇 0.041 9 g、异戊醇 0.041 7 g、正戊醇 0.028 6 g,用 60%(体积分数)无甲醇乙醇水溶液溶解并定容至 10 mL,混匀,密封后置于冰箱中保存;临用时用 60%无甲醇乙醇水溶液稀释 10 倍。

1.2.2 萃取头的制备 取直径为 0.05 mm 的石英光纤,表面经处理后用 50 g/L 的环氧树脂溶液进行涂渍,使之在光纤表面形成一层均匀的环氧树脂层,涂后在显微镜下测量涂层的实际厚度。本实验所用的 SPME 萃取头涂层在显微镜下测量厚度为 60 μm ~ 85 μm ,伸出注射器针头的长度为 1.5 cm,将制得的光纤萃取头组装成固相微萃取装置,放入 GC 汽化室内在氮气保护下于 200 $^{\circ}\text{C}$ 老化 2 h 备用。

1.2.3 色谱条件 涂有 6.6% PEG-20M 的石墨碳黑不锈钢填充柱(2 m × 4 mm i. d.);汽化室温度 170 $^{\circ}\text{C}$;检测器温度 170 $^{\circ}\text{C}$;柱温 70 $^{\circ}\text{C}$;载气流量 30 mL/min^[8]。

1.2.4 标准曲线的绘制 分别取 0.10 mL、0.20 mL、0.50 mL、0.80 mL 和 1.00 mL 混合标准溶液于 100 mL 顶空瓶中,加入 30 g NaCl,加重蒸水至 100 mL,加入磁力搅拌子,在(65 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中加热 60 min,在电磁搅拌下将 SPME 萃取头插入顶空瓶萃取 10 min,取出后立即插入气相色谱仪的进样口进行热解吸。分别测定标准溶液的色谱峰峰面积,以峰面积对相应的质量浓度作图,得标准曲线,并求出回归方程。

1.2.5 样品测定 量取适量酒样于 100 mL 顶空瓶中,加入 30 g NaCl,然后加重蒸水至 100 mL,加入磁力搅拌子,密闭,按“1.2.4”节的分析步骤进行分析。与标准溶液的色谱图比较,根据保留时间定性,峰面积外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 萃取条件的优化

2.1.1 SPME 固相涂层的选择 采用 5 种涂层分别为 OV-1、PEG-20M、环氧树脂、PEG-20M + 环氧树脂及无涂层的光纤,分别按上述操作步骤分析几种醇类的混合标准溶液,发现涂有环氧树脂的光纤萃取效果最好。涂有 PEG-20M 的光纤初次使用效

果较好,但使用过程中发现该涂层较易脱落,导致结果重现性差。而环氧树脂涂层则能耐较高温度、不易脱落、使用寿命长。涂层厚度也对萃取效果也有一定的影响,厚度增大则萃取量增加,但过厚将造成解吸温度增高和解吸时间延长。通过对厚度为 24 μm ~ 100 μm 的几种环氧树脂涂层的比较,发现厚度为 60 μm ~ 85 μm 的涂层萃取效果较好且对解吸条件要求不高。故选择涂层厚度为 60 μm ~ 85 μm 。

2.1.2 气-液平衡温度和时间的选择 比较了不同水浴温度(20 $^{\circ}\text{C}$ ~ 80 $^{\circ}\text{C}$)对酒中甲醇和杂醇油 HS-SPME 萃取效果的影响。在相同的平衡时间内,温度达 60 $^{\circ}\text{C}$ 以上时,HS-SPME 萃取效果较好。考虑到顶空瓶必须保持密闭的要求,选择气-液平衡温度为 65 $^{\circ}\text{C}$ 。在 65 $^{\circ}\text{C}$ 时比较不同恒温时间对 6 种化合物 HS-SPME 萃取效果的影响,发现在 60 min 以上时萃取效果较好。

2.1.3 NaCl 用量的选择 待测化合物在水中均有一定的溶解度,加入 NaCl 可降低待测化合物在水中的溶解度,使之在气相中所占体积分数增加,有利于提高分析的灵敏度。因此考察了在标准溶液中加入不同量(5 g ~ 40 g)NaCl 对萃取效率的影响。当 100 mL 水溶液中所含 NaCl 的质量为 25 g ~ 40 g 时待测物的色谱峰达到最大并保持稳定,因此选用加入 30 g NaCl 进行实验。

2.1.4 萃取时间的选择 固相微萃取的萃取头在达到气-液平衡的顶空瓶中的放置时间直接关系到对气相中待测组分的萃取量。比较了不同的萃取时间(2 min ~ 20 min)对萃取效率的影响,结果表明甲醇和杂醇油的萃取量初始时随萃取时间的增加而不断增加,10 min 时基本达到稳定。搅拌可使气-固平衡时间缩短。实际测定时,我们选择在搅拌状态下于 65 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 60 min,萃取 10 min 进行测定。

2.1.5 解吸温度和解吸时间的选择 甲醇和杂醇油均属于易挥发性化合物,解吸温度不需要很高。改变气相色谱仪进样口的温度,即改变解吸温度会对 6 种化合物的测定结果产生影响。考虑到解吸温度过高对 SPME 涂层损害较大,解吸温度过低则解吸时间增长,色谱峰形不对称,因此采用 170 $^{\circ}\text{C}$ 作为解吸温度。在此解吸温度条件下,比较了不同解吸时间对测定结果的影响,结果表明 1 min 可基本解吸完全。

2.2 方法评价

2.2.1 方法线性范围和检出限 根据实际样品中待测物质的含量配制系列标准液,6 种待测物的质量浓度在 0.04 mg/L ~ 400 mg/L 时线性良好。以基线噪声的 2 倍所对应待测物的质量浓度作为方法

的检出限。甲醇、异戊醇和正戊醇的检出限均为 0.02 mg/L ;异丁醇和正丁醇的检出限均为 0.03 mg/L ;正丙醇为 0.04 mg/L。混合标准溶液及葡萄酒样品的 HS-SPME-GC 色谱图见图 1。

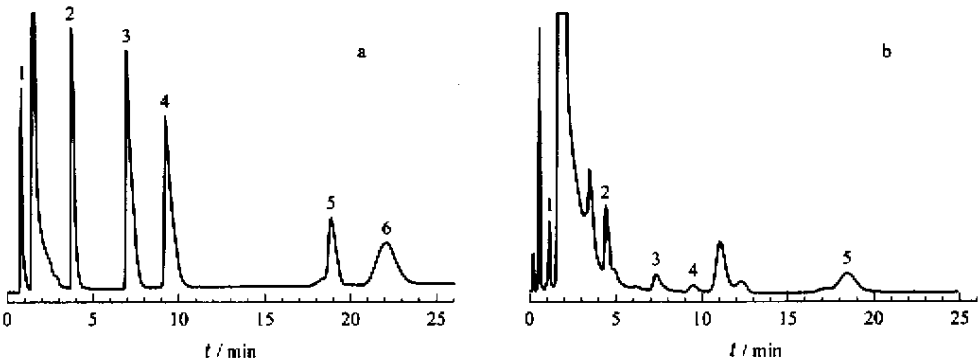


图 1 甲醇与杂醇油的标准品混合物(a)及葡萄酒样品(b)的 HS-SPME-GC 色谱图
Fig.1 Chromatograms of methanol and fusel oil standards solution(a)and wine sample(b) by HS-SPME-GC
1. methanol ; 2. propanol ; 3. iso-butanol ; 4. n-butanol ; 5. iso-pentanol ; 6. n-pentanol.

2.2.2 方法精密度 配制一定质量浓度的标准液 , 按优化实验条件进行测定($n = 7$),各组分峰面积的相对标准偏差(RSD)为 1.4% ~ 4.1%。

2.2.3 准确度实验 (1)加标回收试验 :对几种酒样分别进行了加标回收试验。取同一样品 9 份 ,3 份测定本底 ,另 6 份加入不同量的标准品 ,按测定方法进行操作。结果表明 ,待测化合物的加标回收率为 80.8% ~ 110.3% ,平均值为 100.2%。其中啤酒及葡萄酒样品测定的结果见表 1。(2)与国家卫生标准分析方法对比 :对某保健酒和啤酒样分别采用 HS-SPME-GC 法和酒样经蒸馏后直接进样分析的 HS-GC 法(国家卫生标准分析方法 GB5009.48-1996)进行测定 ,结果见表 2。由表 2 中的分析结果可以看出 ,两法的相对误差不大于 7.3%。用 HS-GC 测得酒中甲醇的含量偏低 ,可能是因为酒样蒸馏造成了挥发成分的损失。

表 1 样品加标回收试验结果					
Table 1 Spiked recovery tests by HS-SPME-GC					
Sample	Analyte	Background (mg/L)	Added (mg/L)	Found (mg/L)	Recovery (%)
Beer	methanol	11.40	2.39	13.67	95.0
			9.36	20.60	98.3
	<i>n</i> -propanol	13.51	8.40	21.00	89.2
			16.80	27.61	83.9
	<i>iso</i> -butanol	19.37	16.76	35.40	95.6
	<i>n</i> -butanol	7.68	4.19	11.29	86.2
Wine	<i>n</i> -butanol		16.76	24.44	100.0
	<i>iso</i> -pentanol	63.01	16.68	80.06	102.2
	<i>n</i> -pentanol	22.18	11.44	34.80	110.3
	methanol	46.89	23.90	70.68	99.5
	<i>n</i> -propanol	12.73	8.40	20.51	92.6
			33.60	44.91	95.8
	<i>iso</i> -butanol	0.19	10.48	9.83	92.0
			41.90	41.78	99.2
	<i>n</i> -butanol	60.96	10.48	70.77	93.6
			41.90	103.17	100.7
	<i>iso</i> -pentanol	170.80	41.70	212.43	99.8
	<i>n</i> -pentanol	ND	7.15	7.33	102.5
			28.60	29.11	101.8

ND : not detected.

表 2 HS-SPME-GC 法与 HS-GC 法比较
Table 2 Comparison of HS-SPME-GC with HS-GC for the analysis of samples

Analyte	Functional alcohol			Beer		
	HS-SPME-GC (mg/L)	HS-GC (mg/L)	relative error (%)	HS-SPME-GC (mg/L)	HS-GC (mg/L)	relative error (%)
Methanol	260.0	214.0	21.5	9.0	ND	—
<i>n</i> -Propanol	250.0	248.0	0.8	13.0	13.0	0
<i>iso</i> -Butanol	76.0	78.0	2.6	19.0	20.0	5.0
<i>n</i> -Butanol	88.0	82.0	7.3	7.0	7.0	0
<i>iso</i> -Pentanol	160.0	160.0	0	52.0	51.0	2.0
<i>n</i> -Pentanol	9.0	ND	—	20.0	ND	—

ND : not detected.

2.2.4 HS-SPME-GC 与 HS-GC 的比较 在相同色谱条件下对同一样品平行进行 HS-SPME-GC 和

HS-GC 测定 ,比较峰面积(见图 2),可知 HS-SPME-GC 比 HS-GC 法的灵敏度高 20 倍 ~ 300 倍。

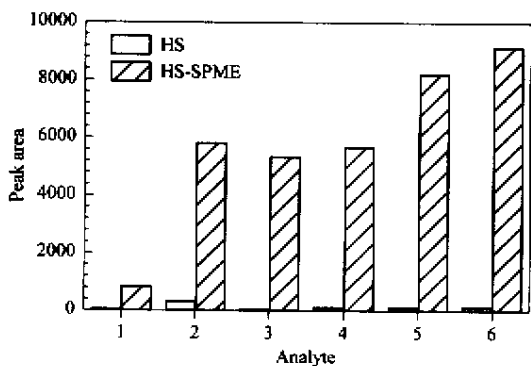


图 2 HS-GC 与 HS-SPME-GC 在甲醇和杂醇油测定中的灵敏度比较

Fig.2 Comparison of HS-GC and HS-SPME-GC for sensitivity in the analysis of methanol and fusel oils

1. methanol; 2. n-propanol; 3. iso-butanol; 4. n-butanol; 5. iso-pentanol; 6. n-pentanol.

3 结论

本文采用环氧树脂作为固相涂层制作 SPME 装置,建立了 HS-SPME-GC 测定酒中甲醇和杂醇油的方法,优化了色谱条件和萃取条件。该法操作简便、快速、准确、灵敏度高、精密度好,适合于分析甲醇和杂醇油等极性有机化合物,拓宽了固相微萃取

法的应用范围,并为新型萃取纤维的开发和研制提供了思路。

参考文献：

- [1] Department of Standard, Chinese Academy of Preventive Medicine. Compilation of National Standard for Food Hygiene(4). Beijing: Chinese Standard Press, 1997. 458
中国预防医学科学院标准处. 食品卫生国家标准汇编(4). 北京: 中国标准出版社, 1997. 458
- [2] LU Chang-hao. Physical Testing and Chemical Analysis for Foods. Beijing: People's Health Press, 1993. 152
鲁长豪主编. 食品理化检验学. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 152
- [3] Belardi R P, Pawliszyn J B. Water Pollut Res J Can, 1989, 24: 179
- [4] Elke K, Jermann E, Begerow J, et al. J Chromatogr A, 1998, 826: 191
- [5] Potter D W, Pawliszyn J. J Chromatogr, 1992, 625: 247
- [6] Denis Page B, Lacroix G. J Chromatogr, 1993, 648: 199
- [7] LI Yuan-qian, LIU Guo-jun. Journal of West China University of Medical Sciences, 1991, 22(1): 103
黎源倩, 刘国钧. 华西医科大学学报, 1991, 22(1): 103

启 事

敬告作者和读者

Journal of Natural Gas Chemistry(《天然气化学(英文版)》)从 2002 年起改由中国科学院大连化学物理研究所和中国科学院成都有机化学研究所共同主办。联合办刊编辑部设在中国科学院大连化学物理研究所,主编由包信和研究员和 Alexis T. Bell 教授担任。新的编辑委员会将在 *Journal of Natural Gas Chemistry* 2002 年第 1 期中公告。今后作者来稿请寄中国科学院大连化学物理研究所 *Journal of Natural Gas Chemistry*(《天然气化学(英文版)》)编辑部。欢迎广大读者直接同本编辑部联系办理 2002 年期刊的订阅手续。

编辑部地址: 大连市中山路 457 号 邮编: 116023 联系人: 杨 宏
电话: (0411) 4379237 传真: (0411) 4379021 E-mail: jngc@dicp.ac.cn