

酒中甲醇测定方法的研究进展

李永生¹, 齐娇娜², 高秀峰³

(1. 四川大学化学工程学院, 四川 成都 610065; 2. 东北电力学院应用化学系, 吉林 吉林 132012; 3. 四川大学华西基础与法医学院, 四川 成都 610065)

摘要: 测定乙醇中甲醇的方法主要有比色法、GC法、HPLC法、固定化酶FIA法、酶电极法、激光拉曼光谱法、Fourier变换红外光谱法、折射法和蒸馏法9种。GC法、HPLC法、激光拉曼光谱法和Fourier变换红外光谱法不适合现场的快速监测; 折射法和蒸馏法其测定精度不高; 固定化酶FIA法和酶电极法(与比色法相比)具有使用仪器简便、操作简单、分析速度快、选择性好、灵敏度高的特点; 固定化酶FIA法能实现自动分析。现行GB2757-81国标规定不同原料酿制的白酒中甲醇的安全含量不同是不合理的, 建议修改其甲醇对人体的安全含量, 控制在400 mg/L以下。(孙悟)

关键词: 白酒; 甲醇; 测定; 研究进展

中图分类号: TS262.3; TS261.7; O623.411 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2006)01-0084-06

Research Advance of M ethanol Detem ination M ethods for W ines

LI Yong-sheng¹, Q I Jiao-na² and GAO X iu-feng³

(1. School of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu, 610065; 2. Northeast China Institute of electric power engineering, Jilin, 132012; 3. West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610065, China)

Abstract: There were nine m ethanol detem ination m ethods for w ines including colorim etric m ethod, gas chrom atogra-phy (GC), high perform ance liquid chrom atography (HPLC), inm obilized enzym e flow -injection analysis (FIA), enzym atic electrode, laser rom an spectrum, Fourier transform infrared spectrum, refraction and distillation and so on. GC, HPLC, laser rom an spectrum and Fourier transform infrared spectrum were unsuitable for on-the-spot rapid detem ination. The precision of refraction and distillation m ethods was not so accurate. FIA and enzym atic electrode (com pared w ith col- orim etric m ethod) had the advantages such as sim ple instrum ent, convenient operation, rapid analysis, high sensitivity and good selectivity. Besides, FIA could realize autom atic analysis. The currently available GB 2757-81 was unsound be- cause there was a provision in GB 2757-81 that m ethanol safety contents in liquor produced by different raw m aterials were different. It was advised that m ethanol safety content should be controlled less than 400 mg/L in all liquor. (Tran. by YUE Yang)

Key words: liquor; m ethanol; detem ination; research advance

酒包括发酵酒、蒸馏酒及配制酒,其乙醇含量0.5%~60%(v/v);发酵酒包括啤酒、葡萄酒、果酒和黄酒;蒸馏酒包括白酒、白兰地、威士忌、伏特加和朗姆酒;配制酒(露酒)是以发酵酒、蒸馏酒或食用酒精为酒基,加入可食用的辅料或食品添加剂,进行调配、混合或再加工制成的,已改变了其原酒基风格的饮料酒。

甲醇是一种比乙醇价格低、带有酒精气味且难以凭感官区别于食用酒精的工业原料,是酒中的有害成分,为白酒卫生标准中的重要控制指标之一。白酒生产过程

中会自然产生甲醇、乙醇和其他有机物质;由于甲醇和乙醇的沸点接近(分别在64.7和78.3),很难分离,所以,白酒中不可避免地含有一定量的甲醇。饮用含有适量甲醇的白酒,对人体不会造成伤害;但白酒中甲醇含量超标,对消费者的健康会造成严重伤害。甲醇过量摄入可使人体的中枢神经系统麻醉,视神经系统及视网膜发生病变,导致头痛、恶心、视力模糊,严重时导致失明或死亡;甲醇在体内不易排出,有积累的作用,即使是少量甲醇也能引起慢性中毒。甲醇对人体的致死量为

收稿日期:2005-09-02

作者简介:李永生(1958-),男,山西襄垣人,教授,留日博士,博士生导师,现主要从事化学分析自动化、固定化酶荧光分析、生物传感器等方面的研究,撰写、出版专著2部,在国内外重要期刊上发表英文论文12篇,日文论文11篇,中文论文41篇,SCI收录14篇,EI收录11篇。

143 mg/kg(体重),正常人若误饮甲醇 10 g 左右就足以致死^[1];甲醇在人体内氧化成甲醛、甲酸,毒性分别是甲醇的 30 倍和 6 倍;另外,甲醇还能使人体造成严重代谢性中毒,皮肤经常接触少量甲醇液体可引起皮炎。GB2757-81 规定,以谷类为原料酿造的 60 度蒸馏酒中甲醇含量 <400 mg/L,用薯干及代用品为原料酿造的蒸馏酒,甲醇含量 <1200 mg/L,高于或低于 60 度按 60 度折算。正规酒厂生产的酒中甲醇含量超标的情况较少,作坊式生产的白酒中甲醇含量超标的情况较多。

白酒生产分为粮食发酵和食用酒精勾兑两大类,不用这两种方法生产的白酒都是假酒。假酒中有冒牌假酒和用工业酒精或甲醇勾兑的毒性假酒;前者主要发生在大城市或城镇,全国 17 种名酒,市场上都有假冒品种;后者主要发生在农村,致人伤死事件屡有发生;我国发生的多起大范围酒类中毒事件中,酒中甲醇含量在 2400~41100 mg/L。

我国是酒类产品消费大国,白酒消费量居世界之首。因此,准确、便捷测定和严格控制酒中甲醇含量,对于保证广大消费者的健康具有重大意义。目前,国内外检测酒中甲醇含量的方法主要有比色法、气相色谱法、高效液相色谱法、固定化酶流动注射分析法、酶电极法、激光拉曼光谱法、Fourier 变换红外光谱法、折射法、蒸馏法等。因此,本文对各类酒中甲醇的测定方法、应用及研究进展进行了综述。

1 酒中甲醇的各种测定方法

1.1 比色法(分光光度法)

比色法是以生成有色化合物的显色反应为基础,通过比较或测量有色物质溶液颜色深度来确定待测组分含量的方法;使用的仪器简单,方法精度可以满足酒中甲醇卫生标准要求,但是由于比色法存在着操作繁琐、稳定性差的缺点,特别是受乙醛、酚、葡萄糖等成分的影响较大,故在应用上出现了吸光度不稳定、偏差大和重现性差等问题。

品红-亚硫酸比色法。该方法用于蒸馏酒与配制酒中甲醇的测定(GB/T5009-2003)。其原理是甲醇被氧化(10 min)成甲醛后,与品红亚硫酸反应(30 min),生成蓝紫色化合物,显色温度要大于 20℃,最后与标准系列比较来定量甲醇的浓度。其检出限为 200 mg/L。

1994 年,周坚勇^[2]用多点标准加入法,对酒样中甲醇进行了比色测定,其线性范围为 200~600 mg/L,相对标准偏差(RSD)为 2.9%~4.0%,该法能消除乙醇对甲醇测定的影响。

2000 年,徐道连等^[3]基于品红-亚硫酸比色法提出一种新方法。由于化学反应,样品酒中的组分将会在薄层板上分离,甲醇被高锰酸钾氧化成甲醛,经显色剂(品红-亚硫酸)显色,用色敏器件(三色硅)检测(350~590

nm)来确定酒中甲醇的含量是否超标。该法甲醇线性范围为 200~1000 mg/L。

2001 年,高文惠^[4]等在国标法的基础上将测定温度改为 35℃,反应时间和显色时间分别增加到 25 min 和 60 min,对鸭溪窖酒样进行测定,得到的 RSD<0.92%,回收率为 88%~118%,对国标法的精度有所改善。

2004 年,张文^[6]对国标法作了一些改进。国标法是在标准系列中先添加无甲醇的乙醇后再定容。其认为先加乙醇,乙醇挥发性大,对测定结果有影响,导致回收率不好。所以他采用先加水(4.50 mL),再用无甲醇的乙醇(0.50 mL,60%)溶液定容(5.00 mL)。另外,该作者将样品液和标准液加入 2 mL 高锰酸钾/磷酸溶液,在热水浴中放置 10 min 代替国标法的直接放置 10 min,使甲醇被高锰酸钾充分氧化成甲醛;样品和标准各加 5 mL 品红-亚硫酸溶液后,于热水浴中静置 30 min,使甲醛在一定的温度下与品红-亚硫酸充分反应生成蓝紫色化合物。改进后的方法受热均匀,显色稳定,重现性好(RSD<1.1%),回收率为 99%~102%。

变色酸比色法。变色酸法也称铬变酸法,甲醇在酸性条件下被高锰酸钾氧化,生成甲醛,甲醛在浓硫酸溶液中与变色酸反应形成紫色化合物(580 nm),其吸光度与甲醇含量成正比。过剩的高锰酸钾,在与变色酸反应之前,用偏重亚硫酸钠除去。该法与酒中其他醇类、醛类(除甲醛)、酸类不反应,专一性较好;和上述国标法相比,操作简单、快速、灵敏、显色稳定,具有较大的实用价值;缺点是在浓硫酸介质中进行,不易控制,且醛类、烯类化合物及 NO₂ 等对测定有干扰^[7]。

2002 年,王红勇等^[8]在变色酸法的基础上,通过改用固体试剂、混合试剂及微型光电比色计,建立了一种适用于现场白酒中甲醇测定的简易方法,将原来的水浴加热反应 30 min,缩短为室温反应 10 min;此法检出限为 40 mg/L,回收率为 94%~105%;与气相色谱法比较,无显著性差异。

2003 年,任静波等^[9]基于变色酸法提出了一种白酒中甲醇含量的快速定性方法。她分别用低(浅紫红)、中(紫红)、高(深紫红)3 种浓度的甲醇标准液与样品对比,可得样品中甲醇大概浓度。该方法操作方便、设备简单,可用于快速普查测定,其检出限可达到 50 mg/L。

2,4-二硝基苯肼比色法。2004 年,陆纯明^[10]等提出用 2,4-二硝基苯肼作为显色剂代替变色酸测定酒中甲醇的检测方法。甲醇经高锰酸钾氧化为甲醛,甲醛在 pH12 条件下与 2,4-二硝基苯肼反应生成稳定的酒红色腙类物质(390 nm);该方法的回收率为 94%~105%,RSD<0.6%,检出限为 2.7 mg/L。

1.2 气相色谱法

气相色谱(GC)法用于甲醇含量测定最早由 Caggiano 和 Beck 提出^[11]。1976 年,沈尧绅^[12]等人使用

DNP-Tween 混合柱,对白酒中醇、酯等主要成分采用液体直接进样法进行 GC 分析。之后 GC 法在我国酒类的各种成分测定中的应用越来越广泛。

1.2.1 填充柱 GC 法

GDX-102 填充柱 GC 法。该法为现行的“蒸馏酒及配制酒卫生标准的规定方法”(GB/T5009-2003)中规定的甲醇和高级醇类测定的第一法。它利用甲醇在氢火焰中的化学电离进行检测(FID),根据峰高与标准比较定量;色谱柱长 2 m,内径 4 mm,材质为玻璃柱或不锈钢柱;固定相采用 GDX-102(60~80 目);汽化室和检测器温度为 190℃,柱温为 170℃;载气(N₂)流速和氢气(H₂)流速均为 40 mL/min,空气流速为 450 mL/min;进样量为 0.5 L;由于 GDX-102 在保存和使用中较易吸附水分而失去活性,使用前和用过一段时间后需进行活化处理^[13,14],同时由于 GDX 的疏水性,水在大多数有机化合物之前流出色谱柱,其干扰使基线上漂,影响甲醇测定的准确性^[15]。

胡红梅等^[16]对上述国标法进行改进,采用色谱柱程序升温法。色谱柱温度先设为 150℃,保持 2 min,然后以 20℃/min 升至 170℃,保持 10 min,载气(N₂)流速为 40 mL/min,氢气(H₂)流速为 30 mL/min,空气流速为 400 mL/min;进样量 1 L。该法甲醇保留时间 0.98 min,接近 2 min 时乙醇才出峰,获得了较好的分离效果。

DNP 混合柱 GC 法。DNP 混合柱是在邻苯二甲酸二壬酯中加入一定量的吐温 60(或吐温 80)配制而成,通常 DNP 加量为 20%,吐温量为 7%^[17]。其优点是采用恒温分析,一般色谱仪均可使用;方法简便,易于掌握;填充柱的性能稳定、耐用,装柱成本较低廉^[18]。

DNP-Tween 标准柱用于酒中乙酸乙酯的测定^[19],也常被用于测定甲醇。但实际应用时又常出现误差大、重现性差的情况^[13],甚至出现甲醇、乙醇分不开^[20]或甲醇出不了峰的情况^[21];采用 DNP 混合柱分析白酒样品时间较长(40 min/样品),难以满足快速分析的要求^[22]。

方沛等^[23]提出一种添量加减 GC 法,即在内标法的基础上在试样中添加甲醇标样进行色谱分析,将检出的甲醇量减去添加的甲醇量,即为样品中的甲醇含量。此方法能检出白酒中较低含量的甲醇。

填充柱 GC 法采用直接进样时,甲醇出峰早,但第二个样品注入之前,必须等其他成分全部流出色谱柱后方可再进行;这对只测定甲醇来说是很浪费时间的^[24]。另外,由于食用酒成分非常复杂,有的高沸点成分流不出柱子而留于气化和色谱柱,污染气化和色谱柱,对分析造成干扰,缩短色谱柱的使用寿命^[25]。

1.2.2 毛细管柱 GC 法

在国家酒精通用试验法(GB394.2-94)中,毛细管柱 GC 法被列为杂醇油和甲醇测定的首选方法。此法具有灵敏度高、分离效能和选择性好的优点。毛细管柱质量

直接影响着分析的准确度,所以常选用耐高温、柱效高、化学性质稳定的交联石英毛细管柱^[26]。柱寿命与它的使用温度成反比,采用稍低的温度可显著提高柱的寿命,程序升温到高温时所维持的时间越短对柱的寿命影响越小。

1992 年,蔡心尧等^[27]采用 PEG-20M 交联毛细管柱直接进样技术对酒中醇、酯进行了分析。但由于柱性能的限制,进行程序升温操作也无法将甲醇完全分离开(与乙缩醛重合并与乙酸乙酯分离不够好)。

1998 年,许庆琴等^[28]采用 HP-20M 石英毛细管柱测定酒中甲醇和杂醇油,柱温起始为 60℃,进样 3 min 后,以 5℃/min 升温,至 130℃ 后保持恒温,汽化室温度 150℃,检测器(FID)温度 250℃,载气(N₂)0.5 mL/min,尾吹流速 20 mL/min,分流比 45:1,进样 2 L。该法测得甲醇检出限 0.012 mg/L,相对标准偏差 0.40%。

2001 年,黄艳梅等^[29]采用 CP-Wax57CB 毛细管柱测定酒中甲醇和杂醇油,柱温起始为 50℃,恒温 2 min 后,以 4℃/min 升温至 100℃,再以 10℃/min 升温至 210℃,继续恒温约 16 min,汽化室温度 230℃,检测器(FID)温度 240℃;载气为高纯氮,柱头压为 20 psi,柱流量 1.36 mL/min,尾吹气 39 mL/min,空气 400 mL/min,氢气 30 mL/min,进样量 1 L。甲醇测定的 RSD<3.91%,回收率 101%~109%。

2002 年,朱任群等^[30]采用交联 FFAP 弹性石英毛细管柱测定了酒中的甲醇和杂醇油,载气(N₂)流速 1.3 mL/min,氢气流速 30 mL/min,空气流速 440 mL/min,分流比 1:52,柱温起始为 40℃,保持 4 min,以 20℃/min 升至 180℃,保持 1 min,汽化室温度为 200℃,检测器(FID)温度为 220℃。甲醇测定的 RSD<2.1%,回收率为 99%~101%,线性范围 50~1500 mg/L。

采用毛细管色谱法能一次直接进样,快速测定乙醛、甲醇、正丙醇、异丁醇、异戊醇及有关酯类组分的含量,干扰小,测定下限可达 1 mg/L;但复杂的测定程序,如升温、分流、尾吹、基线补偿等,用一般的中低档色谱仪不能满足^[31]。

1.2.3 顶空 GC 法

静态顶空 GC 法是将密闭容器中的样品在一定的温度下与其上方的蒸汽达到平衡,然后抽取上方蒸汽以供 GC 分析。该法用于酒中甲醇测定比直接进样法有更高的精密度和准确度,不受非挥发组分的干扰,缺点是如果样品中甲醇含量很低,必须进行大体积进样,使得挥发性物质色谱峰的初始展宽较大,影响色谱的分离效能。

2001 年,刘兴平等^[32]用 10% ODPN 作固定相,测定了酒中的甲醇。载气(N₂)流速 35 mL/min,氢气流速 25 mL/min,空气流速 300 mL/min,柱温 45℃,汽化室温度 100℃,检测器温度 120℃。其平均分析周期 8 min,分析

速度是国标 GDX-102 柱的 2.28 倍。

2002 年, 刘江勋等^[33]采用 GDX102 (60-80 目) 不锈钢柱, 在柱温 150 °C, 汽化室和检测器 (FID) 温度 190 °C, 载气 (N₂) 流速 25.5 mL/min, 氢气为 100 kPa, 空气为 200 kPa 的实验条件下, 测定深色酒中的甲醇; 其测定范围为 100~1200 mg/L, 回收率为 95%~105%, RSD<2.0%。

顶空固相微萃取-GC 法, 固相微萃取 (SPME) 是近十年来新兴的分析技术。20 世纪 90 年代, 由 Pawliszyn 等人首次提出, 其显著优点是将萃取、浓缩合二为一, 操作简单, 实现了样品的在线浓集与捕集, 最大程度上避免了离线溶剂提取和浓缩的烦琐。顶空/固相微萃取装置由手柄和涂有不同固定相或吸附剂的纤维萃取头组成; 通过萃取头的涂层对顶空中的有机挥发性物质的吸附和随后的解脱吸附分析来完成分析的过程。

刘红河等^[34]以环氧树脂作为 SPME 装置的固相涂层, 测定了啤酒、葡萄酒和保健酒中的甲醇和杂醇油, 检出限为 0.04 mg/L, RSD<4.1%, 回收率为 81%~110%; 与顶空 GC 法相比, 灵敏度可提高 20~300 倍。

顶空进样 GC 法与直接进样 GC 法相比, 具有进样量少、分析时间短 (10 min)、重现性好、准确度高等优点。其缺点是一般顶空进样都需要自动的顶空进样器, 成本较高。

1.3 高效液相色谱法

高效液相色谱法 (HPLC) 具有高效、灵敏、选择性好、分析速度快等优点, 被广泛应用于石油、化工、环境卫生、食品工业及医药卫生等方面^[35,36]。采用 HPLC 法测定酒中甲醇时, 需要对样品进行预处理, 使分析过程复杂化。Chen^[37]等采用 HPLC 法对乙醇溶液中的微量甲醇进行了测定, 线性范围为 6~640 mg/L, 甲醇的检出限为 3 mg/L, RSD<16%。

1.4 固定化酶-流动注射分析法

流动注射分析 (FIA)^[38]结合固定化酶用于甲醇测定是目前的新方法^[39-42]。其多酶催化反应原理见图 1(a) 所示。甲醇被醇氧化酶 (AOD) 催化氧化生成甲醛, 甲醛再经甲醛脱氢酶 (FDH) 的催化作用下进一步被 NAD⁺ 氧化为甲酸, 同时生成荧光物质 NADH, 最后用荧光检测 NADH 的荧光强度定量甲醇含量。

反应流程设计时将过氧化氢酶 (CAT) 和 AOD 混合使用; 因为, CAT 可以增加 AOD 的稳定性^[39]; 在 CAT 存在的情况下, 过氧化氢也可以将甲醇氧化为甲醛, 这就加快了生成甲醛的速度^[40], 因此, 可以提高检测甲醇的灵敏度。

Maria 等^[41]基于以上原理, 在 FIA 系统中 (图 2) 连接了一个 AOD/CAT 固定化酶反应器和一个 FDH 固定

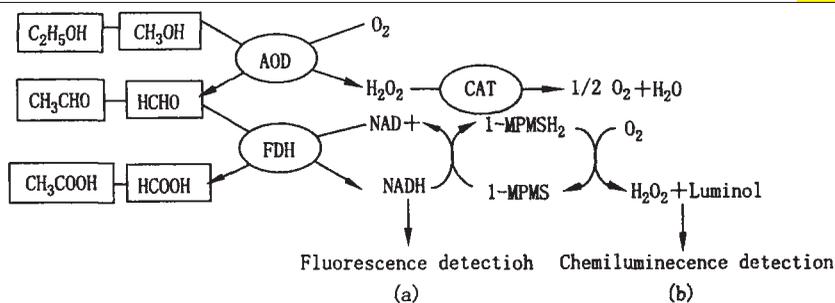
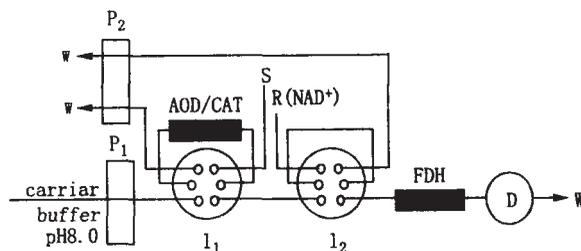


图 1 测定甲醇的酶催化反应原理

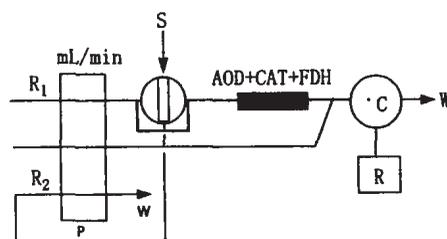
化酶反应器。此方法和常规的生物酶法相比, 试样用量少, 操作简便, 反应条件容易控制; 甲醇的测定范围为 0.13~2.5 mg/L, 检出限为 0.04 mg/L, RSD<1.8%。



P₁, P₂—蠕动泵, I₁, I₂—进样阀, W—排废, D—检测器

图 2 测定酒中甲醇的流动注射固定化酶分析系统

Sekine 等^[42]在上述反应的基础上, 添加了 1-MPMS, 用 FIA 化学发光法测定了甲醇 (图 3)。NADH 被 1-MPMS 脱氢氧化, 生成 1-MPMSH₂, 最后 1-MPMSH₂ 和溶解氧作用产生过氧化氢; 过氧化氢浓度与甲醇浓度成正比关系。该方法中加入 CAT 不仅是为了增加 AOD 的稳定性和提高甲醇检测的灵敏度, 由于化学发光法是用过氧化氢定量甲醇浓度, 所以第一阶段产生的过氧化氢必须除去, 以免影响最后的结果。该方法的检测范围为 0.1~100 mg/L, 检出限为 0.1 mg/L, 每个样品的响应时间 2 min, 相对标准偏差 3%, 该检测体系对甲醇具有良好的选择性, 对甲醇的灵敏度大约是乙醇的 50 倍。



P—蠕动泵, D—检测器, R—记录仪, W—排废

图 3 基于流动注射固定化酶化学发光法测定甲醇的分析系统

1.5 酶电极法

酶电极法的原理是将酶活性物质覆盖在电极表面, 这层酶活性物质与被测的有机物或无机物 (底物) 反应,

形成一种能被电极响应的物质。Gulke 等人^[43]将 AOD 固定在一个 Pt 电极表面,在 0.7 V 直流电作用下,由于 AOD 的催化,样品中的醇类物质在溶液中发生电解反应产生 H_2O_2 ,而 H_2O_2 会引起电流变化,通过测定电流的变化间接检测出对应的醇类物质含量;该方法的电解液的 pH 值为 8.0,反应温度 30 °C;各种醇类对此酶电极的响应灵敏度按以下顺序递减:甲醇 > 乙醇 > 丁醇 > 苯甲醇,甲醇测定范围为 0~118 mg/L。

1.6 激光拉曼光谱法

用激光拉曼光谱法测定乙醇和甲醇的混合液时,其甲醇含量增加会引起拉曼光谱形貌的变化。当甲醇和乙醇混在一起使两种成分的光谱迭加在一起时,需要找到表征甲醇存在的光谱特征。对乙醇来说,880 cm^{-1} ,1078 cm^{-1} 和 1254 cm^{-1} 3 个拉曼带特征最明显,乙醇中混有甲醇时,在 2823 cm^{-1} 有拉曼带存在,其强度可用于判断甲醇的存在、定量甲醇的含量^[26]。激光拉曼光谱方法速度快、用量量少,可用于酒质量的鉴定;但由于其曲线复杂,难以识别,仅适合于科研。谭红琳等^[44]用 Renishaw 的 MKI-1000 型拉曼光谱仪,测定了乙醇、工业酒精及食用白酒中的甲醇;仪器的主要参数设置为:Ar 离子激光 514.5 nm 为激光源,激光功率为 25 mW,狭缝宽度 25 μm ,样品处约 3 mW,扫描时间 10 s,累积次数 1 次,物镜倍数为 20 倍,甲醇检测限可达到 1.0 mg/L。

1.7 Fourier 变换红外光谱法

Fourier 变换红外光谱仪 (FT-IR) 出现于 20 世纪 70 年代,由于其能量高、扫描速度快、光学结构简单,故 FT-IR 技术发展非常迅速。Garrigues 等^[45]利用该方法同时测定了酒中和其他乙醇饮料中的甲醇和乙醇。其原理如下:将试样导入 80 °C 的耐热玻璃反应器中,挥发出来的甲醇和乙醇蒸汽被载流带入样品池中进行测定,得到的红外光谱呈现两个乙醇特征谱带 (1050 cm^{-1} 和 880 cm^{-1}) 和一个甲醇特征谱带 (1030 cm^{-1}),通过测量谱带的面积,实现对同一试样中甲醇和乙醇的测定;乙醇检出限为 1680 mg/L,甲醇检出限为 316 mg/L,RSD < 1.4%。

1.8 折射法

每种纯液体在一定温度下都有固定的折射率,这是液体的特征常数之一。乙醇和甲醇的折光率差异明显。在 20 °C 时,水的折射率为 1.3330,随着水中乙醇浓度的增加,其折射率呈有规律的上升;当甲醇存在时,折射率会随着甲醇浓度的增加而降低,下降值与加入甲醇的量成正比。因此,测定酒样的折射率,就可以得知酒精中甲醇含量。该方法适用于 80 度以下配制酒中甲醇含量 (>2%) 的快速测定,尤其适用于甲醇急性中毒酒样的现场快速鉴别与测定。姚庆伟^[46]采用德国产的折光仪快速鉴别了乙醇和甲醇。该方法简便快速,容易操作,但准确度不高,只能大概测出甲醇含量,不能用于微量甲醇的测定。

1.9 蒸馏法

根据甲醇 (64.7 °C) 和酒精 (78.3 °C) 的沸点不同,在 64.7~78.3 °C 之间进行蒸馏,蒸馏出来的是甲醇,剩下的是酒精和水,由此可以用于定量酒精中的甲醇含量^[47]。此方法简单,无需贵重的仪器和化学试剂;但由于甲醇与酒精一起加热蒸馏时产生共沸,使测定结果偏高。该方法可用于供销人员购买酒精时防止上当受骗,不适宜于质量监督部门对酒精考核做检验的依据。

2 结论

测定乙醇中甲醇的方法主要有比色法、GC 法、HPLC 法、固定化酶 FIA 法、酶电极法、激光拉曼光谱法、Fourier 变换红外光谱法、折射法和蒸馏法 9 种方法。GC 法、HPLC 法、激光拉曼光谱法和 Fourier 变换红外光谱法所需仪器都较昂贵,不适合现场的快速监测;折射法和蒸馏法利用了甲醇和乙醇的物理性质的差异,但其精度不高;固定化酶 FIA 法和酶电极法与比色法相比,具有使用仪器简便、操作简单、分析速度快、选择性好、灵敏度高的特点,应该填补到国标中;固定化酶 FIA 法能够实现自动分析。

现行的 GB2757-81 国标规定的不同原料酿制的白酒中甲醇的安全含量不同是不合理的。无论用什么原料酿酒,其甲醇对人体的危害应该是相同的。所以,无论是谷类酒 ($CH_2OH < 400$ mg/L) 还是薯干酒 ($CH_2OH < 1200$ mg/L),其甲醇对人体的安全含量都应该控制在 400 mg/L 以下,建议修改此国标。

参考文献:

- [1] 王元太.对白酒中微量甲醇及甲醇超标和甲醇中毒的剖析[J].酿酒科技,1998,(5):92.
- [2] 周坚勇.多点标准加入法测定酒中甲醇[J].中国公共卫生学报,1994,13(4):255-256.
- [3] 徐道连,钟先信,肖沙里.酒中甲醇含量检测方法[J].重庆大学学报(自然科学版),2000,23(2):109-111.
- [4] 高文惠,罗敏,赵文伟,等.白酒中甲醇测定方法的研究[J].酿酒,2001,28(1):72-74.
- [5] 李强.对影响白酒甲醇检测准确度因素的分析[J].酿酒,2001,28(4):48-49.
- [6] 张文.测定酒中甲醇的方法改进探讨[J].中国食品卫生与健康,2004,2(4):57-58.
- [7] 葛兴,郑燕英,罗蓓.甲醛的几种测定方法[J].大众科技,2004,(11).
- [8] 王红勇,高志贤,陶贵金.白酒中甲醇简易检测法研究[J].中国公共卫生,2002,18(6):740.
- [9] 任静波,潘锋,曹君.白酒中甲醇快速测定法(变色酸法)[J].食品研究与开发,2003,24(3):103-104.
- [10] 路纯明,赵二伟,李沛青.2,4-二硝基苯肼法测定白酒中甲醇的研究[J].郑州工程学院学报,2004,25(1):29-32.
- [11] M.L.Wang,J.T.Wang,Y.M.Chong.A rapid and accurate method for determination of methanol in alcoholic beverage

- by direct injection capillary gas chromatography [J]. *J. Food composition and analysis*. 2004, 17(2):187-196.
- [12] 沈尧绅, 曹桂英, 孙洁. 关于白酒中醇酯等主要成分气相色谱法分析方法的探讨 [J]. *酿酒*, 1994, (2): 32.
- [13] 徐葆均, 杨盖. 实用仪器分析 [M]. 北京: 北大出版社, 1993.
- [14] 达世禄. 色谱学导论 [M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1998.
- [15] 寇登民, 云希勤. 程序涂渍气相色谱柱的应用-微量有机物的定量分析 [J]. *色谱*, 1993, 11(2): 89.
- [16] 胡红梅, 谢宏斌, 周凌. 改良气相色谱法测定酒中甲醇和杂醇油 [J]. *实用预防医学*, 2004, 11(4): 825.
- [17] 沈尧绅, 曾祖训. 白酒气相色谱分析 [M]. 北京: 轻工业出版社, 1986.
- [18] 沈尧绅. 关于直接进样气相色谱分析白酒香味组分几种方法的探讨 [J]. *酿酒*, 1996, (5): 3-5.
- [19] 宋顺达. 食品标准大全 [M]. 沈阳: 辽宁大学出版社, 1992.
- [20] 佟晓芳. 浅谈采用 DNP-吐温 60 混合柱进行白酒中醇酯分析常见的问题 [J]. *酿酒*, 1994, (2): 4.
- [21] 邓锦霞, 曾祖训. 色谱分析白酒醇、酯的误差剖析 [J]. *酿酒科技*, 1994, (2): 30.
- [22] 胡国栋. 采用填充柱气相色谱法测定白酒主要香味组分方法的要点 [J]. *酿酒*, 1995, (2): 5-7.
- [23] 方沛, 杨白川. 用添量加减气相色谱法检测白酒中低量甲醇的探讨 [J]. *宜春学院学报*, 2003, 25(2): 37-38.
- [24] 吴志勇, 王明信, 李青. 我国白酒气相色谱法分析现状及其发展 [J]. *酿酒*, 1994, (2): 4.
- [25] 梁瑞娥, 韩菊. 顶空气相色谱法测定葡萄酒中甲醇、乙醛的方法研究 [J]. *河北化工*, 1992, (2): 54.
- [26] 徐道连, 钟先信, 肖沙里. 酒中甲醇含量检测方法 [J]. *重庆大学学报(自然科学版)*, 2000, 23(2): 109-111.
- [27] 贡献, 陈周平. 气相色谱法与白酒分析 [M]. 四川: 四川科学技术出版社, 1989.
- [28] 许庆琴, 杜黎明, 李灵欢. 气相色谱法快速测定白酒中的甲醇和杂醇油 [J]. *山西师大学报(自然科学版)*, 1998, 12(2): 43-45.
- [29] 黄艳梅, 卢建春, 主中廷. 利用毛细管气相色谱法分析白酒中甲醇和高级醇类 [J]. *酿酒*, 2001, 28(5): 67-70.
- [30] 朱任群, 王志卿, 黄建春. 气相色谱法测定酒中甲醇杂醇油方法的改进 [J]. *中国卫生工程学*, 2005, 4(2): 90-91.
- [31] 沈尧绅. 关于直接进样气相色谱分析白酒香味组分几种方法的探讨 [J]. *酿酒*, 1996, (5): 3-5.
- [32] 刘兴平, 张良. 食用酒中甲醇气相色谱分析方法研究(1)-ODPN 用于食用酒中甲醇测定的色谱条件研究 [J]. *酿酒科技*, 2001, (3): 67-70.
- [33] 刘江勋, 黎锡流. 顶空气相色谱法测深色酒中微量甲醇 [J]. *酿酒*, 2002, 29(1): 91-92.
- [34] 刘红河, 黎源倩, 孙成均. 顶空固相微萃取-气相色谱法测定酒中的甲醇和杂醇油 [J]. *色谱*, 2002, 20(1): 90-93.
- [35] I. Abdullah, H. Yehia, L. Z. Benet. Determination of alcohols by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection after pre-column derivatization with 2-(4-carboxyphenyl)-6-methoxy-benzofuran. [J]. *Chromatography A*. 1996, (724): 107-115.
- [36] C. C. Kuo, Y. H. Wen, S. S. Wu. Determination of methanol by 4-[N-methyl, N-(1-naphthylmethyl)]-amino-4-oxo-butan-2-ol in presence of 4-Dimethylamino-pyridine and 1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl) Carbodiimide Hydrochloride as Catalysts [J]. *Anal. Letters*. 2003, 36(4): 813-825.
- [37] S. H. Chen, H. L. Wu, C. H. Yen. Trace determination of methanol in water-ethanol solution by determination and high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography*. 1998, (799): 93-99.
- [38] Y. S. Li and X. F. Gao. Flow injection analysis and application for chemistry analysis, The Jilin People's Publisher, 2002, ISBN 7-206-02728-8.
- [39] U. M. M. Izzunova, G. A. Zolotova, I. F. Dolinova. Enzymatic method for the determination of ethanol and methanol with spectrophotometric detection of the rate of the process [J]. *Analyst*, 1996, 121: 431-433.
- [40] L. Gorton, G. Marko-Varga, E. Domínguez. Applications of immobilized enzyme reactors [J]. *Bioelectrochem*. 1994, 51-130.
- [41] C. G. Demaria, T. Manzano, R. Duarte. Selective flow-injection determination of methanol using immobilized enzyme reactors [J]. *Anal. Chim. Acta*. 1995, (309): 241-250.
- [42] Y. Sekine, M. Suzuki, T. Takeuchi. Selective flow-injection determination of methanol in the presence of ethanol based on a multi-enzyme system with chemiluminescence detection [J]. *Anal. Chim. Acta*. 1993, (280): 179-184.
- [43] H. Gulce, A. Gulce, M. Kavanoz, H. Coskun, A. Yildiz. A new amperometric enzyme electrode for alcohol determination [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2002, 17: 517-521.
- [44] 谭红琳, 李智东, 张鹏翔, 段云彪. 乙醇、甲醇、食用酒精工业酒精的拉曼光谱测定 [J]. *云南工业大学学报*, 1999, 15(2): 1-3.
- [45] J. M. Garrigues, A. Perez-Ponce, S. Garrigues, M. de la Guardia. Direct determination of ethanol in liquid samples by means of vapor phase-fourier transform infrared spectrometry [J]. *Vibrational Spectroscopy*. 1997, (15): 219-228.
- [46] 姚庆伟. 利用折光率快速鉴别乙醇和甲醇 [J]. *中国标准化*, 1998, (8): 16.
- [47] 胡建国. 怎样鉴别掺甲醇的酒精 [J]. *监督与选择*, 1991, (9): 28-29.

(上接第 83 页)

年初我国霍裕平院士应用离子束诱变技术筛选的葡萄糖苷酶高产菌株 HA-1 已经成功, 该菌株产酶水平是目前的 3 倍, 从而为将来应用转苷酶来降低生产成本和规模化应用于啤酒酿造成为现实。

参考文献:

- [1] 尤新. 功能性低聚糖生产与应用 [M]. 北京: 中国轻工出版社, 2004.
- [2] 徐宾明. 双歧因子低醇啤酒的研制 [J]. *中国啤酒*, 2005, (3).
- [3] 吴方星译. 利用葡萄糖苷酶并行发酵 [J]. *中国啤酒*, 2005, (1).