

研究简报

多维气相色谱法检测酒中甲醇

伊雄海* 郭德华 邓晓军 朱坚 樊祥 施婧嫣

(上海出入境检验检疫局, 上海 200135)

摘 要 建立了多维气相色谱检测酒中甲醇含量的方法。采用自动进样器将酒类样品直接注入气相色谱进样口,依次经过非极性 RTX-5ms 色谱柱和极性 HP-INNOWax 色谱柱,由气相色谱质谱选择离子监测技术进行测定与确证。甲醇在 1 ~ 10000 mg/L 范围内呈线性相关;方法检出限为 1 mg/L。各种酒类样品在 5, 50, 250, 400 和 800 mg/L 添加水平时,平均回收率为 91.3% ~ 101.9%, 相对标准偏差为 4.5% ~ 8.6%。本方法无需前处理,灵敏度高,选择性好,定性准确。

关键词 酒; 甲醇; 多维气相色谱

1 引言

甲醇是一种挥发性有机物,很容易通过饮食、呼吸和皮肤接触被生物体吸收。甲醇在人体内可以被乙醇脱氢酶代谢成甲醛,还可能被醛脱氢酶转化为甲酸,从而造成代谢性酸中毒^[1,2]。甲醇可以造成恶心、呕吐、眩晕、头疼、呼吸困难、腹部疼痛和视物模糊,严重的可能导致死亡^[3]。

甲醇已被列为有毒危险化学品,酒中甲醇的残留备受重视。中华人民共和国卫生部为此颁布了 GB 2757-1981《蒸馏酒及配制酒卫生标准》^[4], GB 15037-2006《葡萄酒》^[5]和 GB/T 11858-2008《伏特加(俄得克)》^[6]等,规定了酒类样品中甲醇的最大残留限量(Maximum residual limit, MRL),蒸馏酒(60 度)、白(桃红)葡萄酒、红葡萄酒和伏特加分别为 1200, 250, 400 和 50 mg/L。

目前,检测不同样品基质中甲醇含量的方法主要有分光光度法^[7]、酶法^[8]、毛细管电泳法^[9]、高效液相色谱法^[10]和气相色谱法^[11~13]。我国制定 GB/T 5009.48-2003《蒸馏酒与配制酒卫生标准的分析方法》^[14],规定了酒中甲醇含量的测定方法。在这些已有的分析方法中,配备火焰光度检测器(FID)的气相色谱法是最常用的方法。但是,传统气相色谱方法只使用一根单独的色谱柱对组分进行分离,在实际检测过程中常会由于共流出化合物的出现,尤其在测定复杂基质样品时,痕量的甲醇被其它色谱峰干扰或者叠加,都会干扰甲醇的定性分析,甚至造成误判。多维气相色谱(Multidimensional gas chromatography, MDGC)使用两根不同极性的色谱柱分离样品,在第一根色谱柱中未能充分分离的组分,通过中心切割(Heart-cutting)导入到第二根色谱柱中进一步分离,从而实现常规单柱系统难以达到的高分离性能^[15,16]。加以多维气相色谱和质谱联用在定性分析方面的优势,使得复杂样品中痕量甲醇的检测得以实现。

关于酒中甲醇含量的同时准确定性与定量分析尚未见报道。本研究采用多维气相色谱-质谱联用技术,建立了酒类样品(白兰地、伏特加、红葡萄酒和啤酒)中甲醇含量的测定方法。本方法无需前处理,灵敏度高,选择性好,定性准确,为酒中甲醇含量的检测研究提供了技术手段。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

多维气相色谱质谱联用仪(Multidimensional gas chromatography-mass spectrometry, MDGC-MS, 日本岛津公司)。

2010-08-27 收稿; 2010-11-16 接受

本文系上海市技术标准专项(Nos. 09DZ0503700, 10DZ050410) 和上海市技术贸易措施应对专项(No. 09TBT006) 资助

*E-mail: yihx@shciq.gov.cn Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

乙醇(HPLC 级);酒类样品:白兰地、伏特加、红葡萄酒和啤酒样品采自上海出入境检验检疫局;甲醇标准品(纯度大于 99.9% 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司):准确称取适量的甲醇标准品,用 75% 乙醇溶液配制成 10000 mg/L 的标准储备溶液,4 ℃ 冷藏保存;以 75% 乙醇溶液配制成所需浓度,现用现配。实验用水为超纯水(Millipore 公司)。

2.2 多维气相色谱-质谱分析条件

MDGC-MS 系统由两个靠传输线连接的独立的柱温箱系统 1D 和 2D 组成。中心切割功能由位于 1D 柱温箱中的 Deans switch 切换阀来实现。

1D 系统为 Shimadzu GC 2010 型气相色谱 配有火焰光度(FID) 检测器。进样口温度为 240 ℃ 分流比为 50: 1。进样量为 1 μ L。载气为氦气 恒压模式运行 压力为 142.1 kPa。1st 色谱柱为 RTX-5ms (30 m $\times$ 0.25 mm I. D. , 0.25 μ m Restek 公司) 流速 16.9 cm/s。当进行中心切割时 切割压力为 88.3 kPa。柱温采用程序升温: 45 ℃ , 保持 4 min , 然后以 30 ℃ /min 升至 250 ℃ 保持 2.5 min。FID 检测器温度为 280 ℃。

2D 系统为 Shimadzu GCMS-QP2010 Plus 型气相色谱质谱联用仪 配有电子轰击源(EI)。2nd 色谱柱为 HP-INNOWax (30 m $\times$ 0.25 mm I. D. , 0.25 μ m J&W Scientific 公司) 流速 44.4 cm/s。离子源温度: 200 ℃; 接口温度: 250 ℃。柱温采用程序升温: 50 ℃ , 保持 6 min , 然后以 30 ℃ /min 升至 210 ℃ 保持 3 min。质谱检测器采用选择离子监测模式(SIM) 进行测定与确证 , 甲醇的定量离子为 m/z 31 , 定性离子为 m/z 31 , 30 和 32。中心切割窗口为 3.08 ~ 3.26 min , 传输线温度为 250 ℃ , 1D 系统中该时间段内的组分被切割至 2D 系统进行再次分离。

3 结果与讨论

3.1 色谱柱选择

多维气相色谱一般在 1D 系统先选用一根非极性色谱柱进行初步分离 , 在 2D 系统中选用极性色谱柱进行优化分离。本实验中 1D 色谱柱选用非极性的 RTX-5ms 色谱柱。图 1 是中心切割前 2.0 g/L 甲醇标准品与空白样品的叠加色谱图。甲醇保留时间约为 3.2 min。

一些共流出化合物在 RTX-5ms 色谱柱上可能不能得到良好分离 , 并且与目标组分的保留时间相近 , 干扰甲醇的检测。白兰地和伏特加样品在 1D 系统中的色谱图如图 2 所示。由外标法计算得到白兰地和伏特加中甲醇含量分别为 2.54 和 1.56 g/L , 其甲醇含量均超过了国家法律规定。由于单一色谱柱的分离能力很有限 , 痕量目标物常被共流出的其它组分干扰 , 造成检测实际样品时无法进行准确的定量及定性分析。因此 , 传统气相色谱法根据化合物在单一色谱柱上的保留时间对其进行定性与定量分析是有局限的。在不增加样品前处理步骤的情况下 , 多维气相色谱-质谱联用可以极大提高色谱系统分离能力。

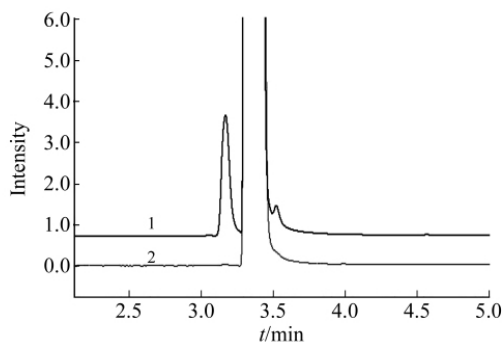


图 1 中心切割前 空白样品和 2.0 g/L 甲醇标准品在 1D 系统中的叠加色谱图

Fig. 1 Overlay chromatogram of blank sample and 2.0 g/L methanol standard in 1D system without heart-cutting

1. 2.0 g/L 甲醇标准品(Methanol standard); 2. 空白样品(Blank)。

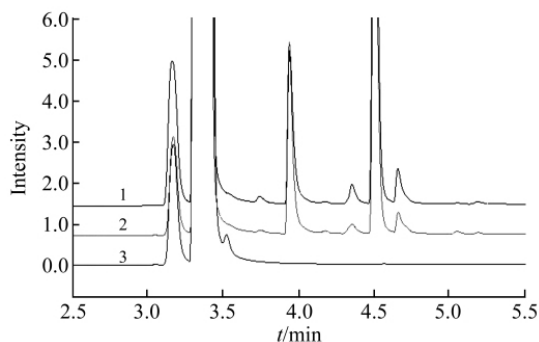


图 2 中心切割前 白兰地、伏特加样品和 2.0 g/L 甲醇标准品在 1D 系统中的叠加色谱图

Fig. 2 Overlay chromatogram of brandy , vodka and 2.0 g/L methanol standard in 1D system without heart-cutting

1. 白兰地(Brandy); 2. 伏特加(Vodka); 3. 2.0 g/L 甲醇标准品(Methanol standard)。

3.2 中心切割条件优化

1D 系统中甲醇区域(3.08 ~3.26 min) 将切割至 2D 系统进行再次分离 ,并采用质谱全扫描模式检测 ,最优分析条件如 2.2 节所述。甲醇标准品在 2D 系统中保留时间约为 5.2 min。甲醇标准品和空白样品质谱图如图 3 所示。为了将组分切割至 2D 系统 ,传输线的温度必须保持在较高温度(250 ℃) ,以防止样品在此处凝结。

3.3 色谱分离优化

1D 系统中酒类样品甲醇色谱峰和共流出物质被切割至 2D 系统 ,进行再次分离检测。甲醇和其它干扰物质得到良好分离 ,并且甲醇含量可由质谱进行准确的定性与定量 ,如图 4 所示。白兰地和伏特加样品中都有一个干扰物在 2D 系统中被分离出来。MDGC-MS 检测结果均进行 NIST 谱库检索 ,通过检索样品中 5.2 min 的色谱峰的质谱图与甲醇相同。因此 ,可由此色谱峰的特征离子碎片(m/z 31) 计算甲醇含量。白兰地和伏特加样品中甲醇实际含量应分别为 2093 和 1231 mg/L ,而非此前由 1D 系统 GC-FID 得到的 2540 和 1560 mg/L。由此可见 ,使用 MDGC-MS 方法检测样品中甲醇含量较为准确 ,可避免假阳性发生 ,这是 MDGC-MS 技术优势所在。

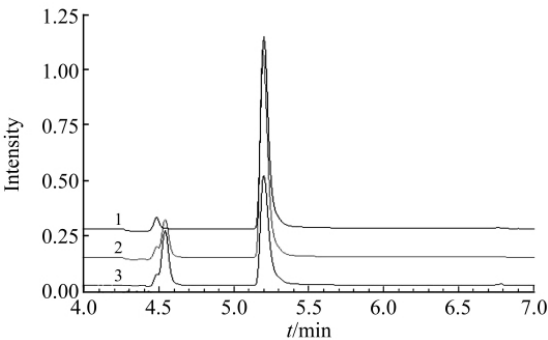
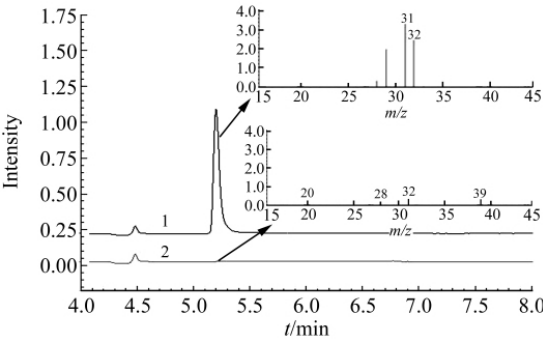


图 3 中心切割后 2.0 g/L 甲醇标准品和空白样品在 2D 系统中的色谱图及质谱图

Fig. 3 2D chromatogram and electron impact mass spectrum of 2.0 g/L methanol standard and blank sample after heart-cutting

1. 2.0 g/L 甲醇标准品(Methanol standard); 2. 空白样品(Blank)。

图 4 中心切割后 2.0 g/L 甲醇标准品 ,白兰地和伏特加样品在 2D 系统中的色谱图

Fig. 4 2D chromatogram of 2.0 g/L methanol standard , brandy and vodka sample after heart-cutting

1. 2.0 g/L 甲醇标准品(Methanol standard); 2. 白兰地(Brandy); 3. 伏特加(Vodka)。

3.4 方法验证

3.4.1 线性关系与灵敏度 在优化的实验条件下 ,测定 1 ~10000 mg/L 甲醇标准溶液 ,其浓度 x 与峰面积 Y 呈现良好的线性关系 , $Y = 6.77 \times 10^7 x + 41.083$ ($r = 0.9997$)。以特征离子色谱峰的 $S/N > 10$ 为方法的定量限 , $S/N > 3$ 为方法的检出限 ,甲醇的定量限为 5 mg/L ,检出限为 1 mg/L ,采用外标法进行定量分析。

3.4.2 回收率与精密度 以不含甲醇的白兰地、伏特加、红葡萄酒和啤酒为空白样品基质 ,添加水平为 5 ,50 ,250 ,400 和 800 mg/L ,每个浓度进行 8 次重复实验 ,结果见表 1。甲醇平均回收率为 91.3% ~101.9% ,相对标准偏差为 4.5% ~8.6% ,符合残留检测的要求。

表 1 5 个添加水平下不同酒类样品中甲醇平均回收率及相对标准偏差 (RSD $n = 8$)

Table 1 Accuracy and precision (RSD) of the proposed method from spiked wine samples ($n = 8$)

添加水平 Spiking level (mg/L)	回收率(相对标准偏差) Recovery (RSD) (%)			
	白兰地 Brandy	伏特加 Vodka	红葡萄酒 Red wine	啤酒 Beer
5	94.8 (7.7)	91.3 (6.8)	92.5 (8.6)	93.1 (6.2)
50	97.6 (5.8)	93.9 (4.9)	91.5 (5.7)	95.9 (6.4)
250	94.9 (4.2)	96.8 (5.4)	95.9 (6.5)	95.1 (8.3)
400	92.8 (5.4)	100.1 (7.4)	98.6 (7.2)	96.4 (4.5)
800	101.9 (6.4)	98.6 (4.8)	99.5 (6.6)	100.5 (6.8)

3.5 实际样品测定

采用本方法对 2199 批进出口酒样品进行筛查检测 ,有 11 个样品中检出甲醇含量超标 ,残留浓度在

360 ~ 3730 mg/L 之间。

References

- 1 Martin-Amat G ,McMartin K E , Hayreh S S. *Toxicol. Appl. Pharm.* ,**1978** ,45(1) : 201 ~ 208
- 2 Fraser A D , MacNeil W. *J. Anal. Toxicol.* ,**1989** ,13(2) : 73 ~ 76
- 3 Sales J A , de Lourdes Cardeal Z. *Food Addit. Contam.* ,**2003** ,20(6) : 519 ~ 523
- 4 GB/T 2757-1981. *Hygienic Standard of Distilled Wines and Mixed Wines*(蒸馏酒与配制酒卫生标准) . National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准)
- 5 GB 15037-2006 , *Wines*(葡萄酒) . National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准)
- 6 GB/T 11858-2008 , *Vodka*(伏特加(俄得克)) . National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准)
- 7 Wood P J , Siddiqui I R. *Anal. Biochem.* ,**1971** ,93(2) : 418 ~ 428
- 8 Klavons J A , Bennett R D. *J. Agr. Food Chem.* ,**1986** ,34(4) : 597 ~ 599
- 9 Jiang C , Liu S , Wu M , Chang W , Chang H. *Food Chem.* ,**2005** ,91(3) : 551 ~ 555
- 10 Levigne S , Thomas M , Ralet M C , Quemener B , Thibault J F. *Food Hydrocolloid.* ,**2002** ,16(6) : 547 ~ 550
- 11 Bohnenstengel F , Soltani N , Baltes W. *J. Chromatogr. A* ,**1993** ,655(2) : 249 ~ 255
- 12 Natishan T K , Wu Y. *J. Chromatogr. A* ,**1998** ,800(2) : 275 ~ 281
- 13 McFeeters R F , Armstrong S A. *Anal. Biochem.* ,**1984** ,139(1) : 212 ~ 217
- 14 GB/T 5009.48-2003 , *Method for Analysis of Hygienic Standard of Distilled Wines and Mixed Wines*(蒸馏酒与配制酒卫生标准的分析方法) . National Standards of the People's Republic of China(中华人民共和国国家标准)
- 15 YANG Yong-Tan , WANG Zheng(杨永坛 , 王 征) . *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学) ,**2010** ,38(12) : 1805 ~ 1808
- 16 Deans D R. *J. Chromatogr. A* ,**1981** ,203: 19 ~ 28

Determination of Methanol in Wines by Multidimensional Gas Chromatography

YI Xiong-Hai* , GUO De-Hua , DENG Xiao-Jun , ZHU Jian , FAN Xiang , SHI Jing-Yan
(Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau , Shanghai 200135)

Abstract The methanol content in various wines was determined by multidimensional gas chromatography (MDGC) . The wine samples were directly injected by autosampler. The methanol was successively separated by nonpolar RTX-5ms and polar HP-INNOWax. The content was quantitatively analyzed by mass spectrometry in SIM mode. The calibration curves showed good linearity in the range of 1 – 10000 mg/L. The detection limit is 1 mg/L. The recoveries were 91.3% – 101.9% with a relative standard deviation of 4.5% – 8.6% at 5 , 50 , 250 , 400 and 800 mg/L spiked level. The method showed good accuracy and precision without sample preparation.

Keywords Wine; Methanol; Multidimensional gas chromatography

(Received 27 August 2010; accepted 16 November 2010)