

# 白酒中杂醇油分析方法的研究进展

金春钰

(黑龙江大学生命科学学院 黑龙江 哈尔滨 150080)

**摘要:** 杂醇油是工业发酵生产酒精、白酒等的副产品,是指除甲醇、乙醇以外的高级醇类,包括正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、正戊醇、仲戊醇、己醇、庚醇等。国家标准规定分光光度法和气相色谱法为杂醇油的分析方法。毛细管柱气相色谱法是国家标准规定以外分析杂醇油的方法,该方法具有渗透性好、分析速度快、进样量少、总柱效高等优点,在工业发酵产品的分析上应用较广泛。随着分析技术的发展,对白酒中杂醇油的分析方法在进一步的改进。(孙悟)

**关键词:** 白酒; 杂醇油; 分光光度法; 气相色谱法; 毛细管柱气相色谱法

中图分类号:TS262.3;O657.3;O657.7 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2005)10-0113-04

## Research Progress in Analytical Methods of Fusel Oil in Liquor

JIN Chun-yu

(Life Science College of Heilongjiang University, Harbin, Heilongjiang 150080, China)

**Abstract:** Fusel oil as the byproduct in alcohol production and liquor production referred to all higher alcohols except ethanol and methanol including n-propanol, isopropanol, n-butylalcohol, isobutanol, sec-amyl alcohol and hexanol etc. Spectrophotometric method and gas chromatography were the authorized national standard analytical methods to fusel oil. Capillary column gas chromatography although not authorized analytic method was also considered as an effective method with its characteristics as good permeability, rapid analysis, small sample filling and high total column efficiency etc. Such method was widely applied in the analysis of fermenting products in industry. With the development of analytic techniques, the analytic methods of fusel oil in liquor could be further improved. (Tran. by YUE Yang)

**Key words:** liquor; fusel oil; spectrophotometric method; gas chromatography; capillary column gas chromatography

杂醇油是工业发酵生产酒精、白酒等的副产品,是指除甲醇、乙醇以外的高级醇类,包括正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、正戊醇、仲戊醇、己醇、庚醇等;是白酒中的风味物质,但含量过多会引起“上头”等症状,对健康有不利影响。因此国家标准中严格限制了白酒中杂醇油的含量<sup>[1]</sup>。白酒中杂醇油标准为 $\leq 0.20$  g/100 mL(以异丁醇、异戊醇计)。

国家标准中给出了两种杂醇油的分析方法:分光光度法和气相色谱法。分光光度法以化学分析为基础,属于化学分析的范围;气相色谱法指传统的填充柱气相色谱法,属于仪器分析的范围。这两种分析方法各有优劣,都有广泛的应用。

### 1 分光光度法分析杂醇油的研究进展

#### 1.1 分光光度法分析杂醇油的原理

分光光度法分析杂醇油的原理是利用醇在浓硫酸

脱水作用下形成烯,再与对二甲胺基苯甲醛作用生成橙黄色物质,于波长 520 nm 处测吸光值,与标准系列比较定量。

醇在浓硫酸脱水作用下形成烯是反应的关键。醇的脱水反应有分子内脱水成烯和分子间脱水成醚两种类型,对于同一种醇来说区别只在于反应条件。只有使杂醇油充分生成烯,检测结果才较为准确。从有机化学角度看,醇的分子内脱水成烯是按单分子历程进行的,即质子化的醇解离出碳正离子,然后由 $\beta$ -碳原子上消除碳正离子而得到烯<sup>[2]</sup>。因此对于不同的醇来说碳正离子的稳定性决定了反应的难易程度。叔碳正离子的稳定性最高。另外,醇脱水反应时容易发生分子内重排,例如异丁醇和异戊醇都是伯醇,但异丁醇经分子内重排后容易形成三级碳正离子而更易脱水。不同级别的醇类失水程度很不一致,同级同量醇类其显色灵敏度亦有差异<sup>[3]</sup>。这

收稿日期 2005-05-27

作者简介:金春钰(1984-),女,大学本科。

些都是准确检测时应当考虑的因素。

### 1.2 国标杂醇油分光光度分析法及其注意事项

国标 GB/5009.48-1996 蒸馏酒及配制酒卫生标准的分析方法中给出的分析杂醇油的操作方法是: 吸取 1.0 mL 样品于 10 mL 容量瓶中, 加水至刻度, 混匀后吸取 0.30 mL, 置于 10 mL 比色管中。含糖着色、沉淀、混浊的蒸馏酒和配制酒应取其蒸馏液作为样品。吸取 0 mL, 0.10 mL, 0.20 mL, 0.30 mL, 0.40 mL, 0.50 mL 杂醇油标准液 (相当于 0 mg, 0.01 mg, 0.02 mg, 0.03 mg, 0.04 mg, 0.05 mg 杂醇油), 置于 10 mL 比色管中。于样品管及标准管中各准确加水至 1 mL, 摇匀, 放入冷水中冷却, 沿管壁加入 2 mL 对二甲胺基苯甲醛-硫酸溶液(5 g/L), 使其沉至管底, 再将各管同时摇匀, 放入沸水浴中加热 15 min 后取出, 立即放入冰浴中冷却, 并立即各加 2 mL 水, 混匀, 冷却。10 min 后用 1 cm 比色杯以零管调节零点, 于波长 520 nm 处测吸光度, 绘制标准曲线比较, 或与标准色列目测比较定量。另需制备对二甲胺基苯甲醛-硫酸溶液(5 g/L)、无杂醇油的乙醇、杂醇油标准溶液、杂醇油标准使用液。

这种方法较为传统, 在质量检验部门尤其是边远地区应用广泛, 但即使在同一标准下, 因操作人员不同<sup>[3]</sup>、操作过程中细节上的差别都会使检测结果不同或不准确。为得到准确结果, 工作人员在实践中总结出许多经验: 对二甲胺基苯甲醛与杂醇油所呈颜色随时间延长而变浅, 但变化较慢, 故显色后应立即比色。加入显色剂后要摇匀, 若不经摇匀就置入沸水浴中显色, 结果偏低很多<sup>[4]</sup>。对二甲胺基苯甲醛需新鲜配制, 存放 2 d 后结果就会偏低。加入对二甲胺基苯甲醛硫酸溶液时要慢慢沿管内壁加入, 否则温度升高太快太高影响检测结果<sup>[5]</sup>。因为在此法中丙醇、正丁醇反应困难, 不包括在分析的杂醇油示值内。但若瞬间温度达到 10 °C 以上, 正丁醇也参加脱水反应, 40 °C 以上丙醇参加反应, 100 °C 以上乙醇参加反应, 所以温度升得越高, 测定结果的偏差就越大<sup>[6]</sup>。在配制杂醇油标准溶液时, 动作要迅速准确, 标准中规定用天平准确称取异戊醇和异丁醇, 但由于这两种物质极易挥发且量极少, 在没有电子天平的边远地区很难做到, 进而影响到标准管的准确性, 为此通常把它们换算成体积, 用吸管吸取更为准确和迅速。其方法为准确吸取 0.26 mL(0.04 g)重蒸异丁醇和 1.04 mL(0.16 g)重蒸异戊醇, 置于 200 mL 容量瓶中, 加入 100 mL 无杂醇油的乙醇, 然后加水至刻度, 此时溶液相当于 1 mg/mL, 临用时再配制成 0.1 mg/mL 杂醇油标准液<sup>[5]</sup>。

### 1.3 对国标杂醇油分光光度分析方法的改进

近几年, 科研工作者还对杂醇油的分析方法在国标

分光光度分析方法的基础上作了进一步的改进。穆文斌等<sup>[6]</sup>用相对于国标的同比扩大法和稀释法做了试验, 证明用稀释法即在原来测定法基础上只在最后一步扩大水的加入量, 既增大了试样量, 便于清洗比色皿(原法总试样量为 5 mL, 稀释法总试样量为 10 mL), 又降低试样粘稠度便于擦拭比色皿, 即使是对平时杂醇油含量小的酒样, 测定结果也影响不大, 可以使用。与此相反, 有人增加了硫酸用量, 以 1:1 硫酸代替蒸馏水, 结果吸光度值明显增大, 且在加入量内, 酸度越大, 吸光度值也越大。并确定 500 nm 为检测的最佳吸收波长<sup>[7]</sup>。

在标准溶液的配制上, 有人主张为了提高检测结果的可比性, 配制杂醇油标准溶液时务必使标准溶液中乙醇含量与实际样品的“酒度”相一致, 且异戊醇与异丁醇的质量比例为 4:1<sup>[3, 4]</sup>; 也有人建议先通过气相色谱法分析异戊醇与异丁醇在酒样中的实际比例, 再以此为依据配制标准溶液<sup>[6]</sup>。前者强调可比性, 后者强调准确性, 可供不同目的的杂醇油分析作参考。但也有人通过实验证明, 在测定白酒中杂醇油含量时, 杂醇油标准溶液中异丁醇和异戊醇的比例在 1:1~1:4 范围内都可以得到较为准确的结果, 因而不必做严格限制<sup>[8]</sup>。

## 2 填充柱气相色谱法分析杂醇油的研究进展

### 2.1 填充柱气相色谱法分析杂醇油的原理

以惰性气体为载气, 根据不同物质在固定相中的滞留时间不同, 而在一定的条件下具有各自特定的保留时间。以保留时间与标准比较定性, 以峰高与标准比较定量分析。

### 2.2 国标杂醇油气相色谱分析法及其改进

目前普遍用气相色谱法测定酒中杂醇油, GB/T5009.48-1996 蒸馏酒及配制酒卫生标准的分析方法规定, 甲醇和杂醇油采用单点外标法进行测定。测定条件为: 色谱柱长 2 m, 内径 4 mm, 玻璃柱或不锈钢柱; 固定相 GDX-102, 60~80 目, 或上试 402 有机担体, 60~80 目; 气化室温度 190 °C; 检测器温度 190 °C; 柱温 170 °C; 载气 (N<sub>2</sub>), 流速 40 mL/min; 氢气 (H<sub>2</sub>), 流速 40 mL/min; 空气流速 450 mL/min; 进样量 0.5 μL; 所用仪器为具有氢火焰离子化检测器的气相色谱仪; 微量进样注射器为 1 μL 和 50 μL 两种。需配制无甲醇、无杂醇油的乙醇、甲醇、正丙醇、仲丁醇、异丁醇、正丁醇、异戊醇、乙酸乙酯纯品标准溶液和标准使用液。

气相色谱法标准样分析要求与待测样品分析条件完全一致。出现了白酒中常见醇类无法实现的基线分离<sup>[9, 10]</sup>等问题。研究的改进方法主要集中在两方面:

①降低系统的温度和载气流速。王春风等<sup>[11]</sup>用 2.0

m×直径 3.0 mm 不锈钢填充柱 20%角鲨烷/6201(60目~80目),柱温 100℃;气化室温度 150℃;检测器温度 160℃;载气流速 20 mL/min。吴阳等<sup>[12]</sup>在 103G 型气相色谱仪上,以 GDX-103 为固定相制备色谱柱,使用氢火焰检测器,气化温度 160℃,氢火焰温度 170℃,柱温 140℃。以氮气为载气,载气流速 20 mL/min,并证明丁酮是合适的内标。以上均是用比标准较低的温度和载气流速获得了较好的效果。一般认为在最难分离的组分尽可能分离的前提下,应采用适当低的温度,但以保留时间适当、峰形不拖尾为度。

②以程序升温代替恒温分析。从原理上讲,杂醇油成分复杂,沸点范围较宽,在较低的初始温度时沸点较低的组分即最早流出的峰可以得到良好的分离。随着柱温的增加,沸点较高的组分有可能较快流出,并和低沸点组分一样也能得到良好分离的峰;而恒温分析出的峰相对密集,高沸点组分峰形易展宽。胡红梅等<sup>[13]</sup>采用柱程序升温(150℃保持 2 min;以 20℃/min 升温至 170℃保持 10 min)能获得更好的分离效果。

综上所述,对国标中杂醇油的分析方法——化学法分光光度法和气相色谱分析法的研究取得了一定进展,也存在一些争论。由于人为因素和分析方法的不够完善,化学法和气相色谱分析法得到的结果往往存在一些差异,任立菊等<sup>[14]</sup>得出化学法经 722 分光光度计测得的值通过计算均低于气相色谱法测出值的结论。刘小跃<sup>[15]</sup>则通过实验证明化学法测得的值高于气相色谱法测出的值。对这两种分析方法的改进仍需进一步探讨。

### 3 毛细管柱气相色谱法分析杂醇油的研究进展

与传统的填充柱气相色谱法相比,毛细管柱气相色谱法具有渗透性好、分析速度快、进样量少、总柱效高等优点,在工业发酵产品的分析上应用越来越广泛。国标中虽然没有给出毛细管柱气相色谱法分析杂醇油的方法,但对它的研究仍很活跃。郝恩等<sup>[16]</sup>用 PEG 毛细管柱 30 m×0.25 mm×0.25 μm(HP19091 N—133),分流进样的用程序升温方式,即 40℃保持 2 min,10℃/min 升温至 120℃时,分离效果较好;改变柱流量从 1.5 mL/min 到 0.9 mL/min,同时以 30:1 的分流方式进样,既可得到良好的分离效果,又能获得较大的响应值和较高的重现性<sup>[16]</sup>。孙启栋等<sup>[17]</sup>用 PEG20M 交联石英毛细管柱,用前在 200℃柱温下充分老化。尾吹气约 30 mL/min,起始柱温 70℃,保持 3 min 后,以 5℃/min 升温至 100℃直至异戊醇流出。许庆琴等<sup>[18]</sup>用色谱柱 HP-20M 25 m×0.20 mm×0.1 μm(美国 HP 公司);起始温度 60℃,进样 3 min 后,以 5℃/min 升温至 130℃后保持恒温。汽化室温度

150℃,检测器温度 250℃;载气 N<sub>2</sub> 0.5 mL/min,吹尾流速 20 mL/min,分流比 45:1,进样 2 μL。苏敬武等<sup>[19]</sup>用气相色谱仪(GC-17)毛细管柱(澳大利亚 SGE 公司,商品号 BP21,长 25 m,内径 0.53 mm)。检测器温度为 240℃,柱温 40℃,2 min 以 5℃/min 升至 100℃,以 10℃/min 升至 150℃。进样量 0.3 μL。并采用乙醇实际进样量校正测定结果,减少了人为操作因素的影响,提高了测定结果的精密度和准确度。以上均是用程序升温方式。杨耀彬等<sup>[20]</sup>则用恒温分析:W WOT 毛细管柱,内径 0.25 mm,柱长 48 m;固定液 PEG20M;柱温 90℃;检测器 180℃;气化室 180℃燃气为氢气,载气为氮气,空气为助燃气,柱前压为 0.04 MPa,吹尾为 0.095 MPa,分流比 1:150,进样 0.3 μL,获得了较好的效果。毛细管柱气相色谱法由于大部分样品放空,对痕量分析很不利,为此应使用大口径开管柱,增加液膜厚度。由于液膜厚度增加,固定相涂布难度增加,同时容易流失,因此常需要将固定相进一步交联以增加稳定性。

### 4 气相色谱法分析杂醇油的进一步改进

文献<sup>[21]</sup>报告的峰鉴定表(ID 表)气相色谱法,利用杂醇油在氢火焰中化学电离进行色谱检测,把待鉴定的色谱峰所对应的标准保留时间及其时间容限、响应因子、标准液浓度集中起来在处理机上编成一组,并赋予一个峰鉴定号的数值。此后再次注入标准溶液和样品液,即可测出酒中的甲醇和杂醇油。操作简单、耗时短,灵敏度、精密度和准确度较高,易于推广。文献<sup>[22]</sup>采用环氧树脂作为固相涂层制作固相微萃取装置,建立了顶空固相微萃取-气相色谱法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。顶空气相色谱法也应用于分析洋酒中的杂醇油<sup>[23]</sup>。

### 5 展望

总结近几年白酒中杂醇油分析方法的研究,可以得出以下结论:①化学分析逐渐被仪器分析所代替,但尚不能完全被取代。与化学分析相比,仪器分析具有灵敏度高、重复性好、耗时少、人为因素少等优点,已经越来越多地应用于杂醇油的分析检测中。但在许多地方由于条件所限仍用化学分析法,优化化学分析条件仍有重要意义。②仪器分析法趋向多样性。当前用仪器分析杂醇油的方法由传统的气相色谱法发展到毛细管柱气相色谱法、顶空固相微萃取-气相色谱法等多种方法。也在分析条件温度、进样方式等方面作了摸索。比色法其实也用到了分析仪器——分光光度计,分光光度计的使用,如最佳波长的选择也在探索之中。③毛细管柱气相色谱法分析杂醇油的方法有可能成为今后国家标准的参考

方法。对该法研究的深入和应用的日益广泛,客观上要求有一个统一的标准,使其不但在科研部门,而且在质检部门也能得到应用。毛细管柱柱效远高于填充柱,但价格也远高于填充柱,因此,制约了其进一步的推广应用。

随着仪器分析技术的发展,包括杂醇油在内的许多工业发酵产品的指标分析必将得到更准确、快速的结果,这对国家经济、人民健康有十分重要的意义,是分析技术研究的活跃领域。

参考文献:

[1] GB2757-1981, 蒸馏酒及配制酒卫生标准[S]

[2] 汪小兰.有机化学(第三版)[M].北京:高等教育出版社, 1997.107-108.

[3] 周胜银,万旭刚.从醇的去水反应机理谈蒸馏酒及配制酒中杂醇油的测定[J].中国卫生检验, 2003, 13(5):660-661.

[4] 寻思颖.关于白酒中甲醇和杂醇油的测定[J].酿酒科技, 2002, 22(4):33-34.

[5] 帅永华.浅谈对白酒中杂醇油测定方法的认识[J].酿酒科技, 2001, (5):42-43.

[6] 穆文斌,刘国英,郭增,等.杂醇油测定误差原因和改进措施[J].酿酒科技, 2004, (2):87-88.

[7] 彭明祥.酒中杂醇油测定方法的改进[J].中国卫生检验, 1999, (2):137-138.

[8] 陈丽娟,郭春芳.比色法测白酒中杂醇油含量方法探讨[J].酿酒, 2001, 28(5):70-71.

[9] 杨惠芬,李明元,沈文.食品卫生理化检验标准手册[M].北京:中国标准出版社, 1997.594-595.

[10] 张洪祥.卫生试验法注解[M].北京:华文出版社, 1995.

102-103.

[11] 王春风,李萍.杂醇油成分的气相色谱分析[J].化学与粘合, 1994, (4):181-182.

[12] 吴阳,项生,昌郑瑛,等.杂醇油主要成分的气相色谱分析[J].福建师范大学学报(自然科学版), 1997, 13(4):63-67.

[13] 胡红梅,谢宏斌,周凌.改良气相色谱法测定酒中甲醇及杂醇油[J].实用预防医学, 2004, 11(4):825.

[14] 任立菊,狄芳,万明.化学法与气相色谱法测定白酒中甲醇、杂醇油含量差异的分析[J].山东食品科技, 2003, (2):7.

[15] 刘小跃.白酒中杂醇油测定方法的探讨[J].中国卫生检验, 2002, 11(3):363-364.

[16] 郝恩,白慧芝.白酒中杂醇油的毛细管柱气相色谱法测定[J].上海预防医学, 2004, 16(7):345-346.

[17] 孙启栋,姜淑芬,张东升.食用酒精中甲醇、杂醇油的气相色谱测定法[J].酿酒, 2003, 30(2):

[18] 许庆琴,杜黎明,李灵欣.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.

[19] 苏敬武,丛庆美,肖辉川.校正进样量提高酒中杂醇油分析精密度方法的探讨[J].预防医学文献信息, 2002, 8(2):198-199.

[20] 杨耀彬,薛连海.酒精杂醇油的色谱分析[J].吉林化工学院学报, 2002, 19(4):20-21.

[21] 石允生,柳开斌.峰鉴定表气相色谱法测定蒸馏酒及配制酒中的甲醇和杂醇油[J].预防医学文献信息, 2003, 9(6):688.

[22] 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):91-93.

[23] 徐超一,周玉峰.顶空气相色谱法分析洋酒中甲醇杂醇油[J].中国卫生检验, 2001, 11(5):547-548.



(上接第 109 页)

5 结论

5.1 无蒸煮酿造的麦曲黄酒(干型),色、香、味均较现有工艺生产的黄酒有所提高,产品质量优势明显,不但完全符合 GB/T13662-2000 黄酒标准,而且如氨基酸态氮、非糖固形物等指标均大于优质稻米黄酒的要求。产品经适当时间的贮存,部分肽和多肽缓慢水解,游离氨基酸态氮含量进一步增加,口感更加鲜爽而丰满。

5.2 麦曲黄酒以无蒸煮酿造,对糖化和发酵剂的数量有一定要求,而且不得有严重污染现象存在,必须具备高活性的质量优势,方可在生产中应用。原料应选用新鲜标一大米,且不宜长时间或较长时间浸渍,避免腐败微生物的大量繁殖。对于贮存时间长和水分含量大,具有霉变现象的大米是绝对不能使用的。

5.3 无蒸煮酿造麦曲黄酒,成熟醪只有在压榨之前处理好,成品一般才能在 3~5 个月内非生物稳定性良好。

贮存 1~3 年,用小包装销售者,经割脚、勾兑、过滤、灌装后,以适当降低灭菌温度、延长灭菌时间为宜,可预防不稳定蛋白质再次变性,保证货架期内酒的稳定。

5.4 麦曲黄酒无蒸煮酿造过程中,一般发酵失重(CO<sub>2</sub>,水分等)是总醪量的 11.5%;灌坛后酵和压榨操作损失一般不超过 1.5%;残糟残酒率小于 50%,残糟率不超过 12%;酒精挥发损失为 0.4%~0.8%(v/v)。压榨原汁酒经勾兑、成分调整后 pH 值可控制在 3.5~4.5 范围内。酒精含量大于 14.5%(v/v)干型黄酒的大米出酒率(不含曲粮)可保持在 330%~340%水平,氨基酸态氮含量在 1.5 g/L 左右,无质量之忧。

参考文献:

[1] 黄平,等.生料酿酒技术[M].北京:中国轻工业出版社, 2001.

[2] 叶春勇,等.无蒸煮酿造的麦曲黄酒[J].酿酒科技, 2005, (7):60-61.