

准确测定己酸菌液中己酸含量的方法

罗 维 ,刘永婷 ,石 敏 ,许 聪

(内蒙古河套酒业集团股份有限公司 ,内蒙古 杭锦后旗 015400)

摘 要： 在生产实践中发现 ,使用 721 型分光光度计——比色法测定己酸菌液中己酸含量的方法不够准确。通过采用不同方法测定对比 ,确定了通过蒸馏己酸菌液 ,然后用色谱法测定其中己酸的含量的方法。该法分析准确度高 ,避免了比色法的误差。(陶然)

关键词： 分析检测； 气相色谱； 己酸含量

中图分类号： O657.3；O657.71；TS261.7 文献标识码： B 文章编号 :1001-9286 (2003)05-0083-01

Approaches to Determine Accurately the Content of
Caproic Acid in Caproic Acid Bacteria Solution

LUO Wei , LIU Yong-ting , SHI Min and XU Cong

(Hetao Liquor Industry Group Co. Ltd. , Hangjinhouqi , Inner Mongolia 015400 China)

Abstract : It was found in practice that the accuracy of the determination of the content of caproic acid in caproic acid bacteria solution by 721 type spectrophotometer—colorimetry was unsatisfactory. Different determination methods were compared and the best one was chromatography after the distillation of caproic acid bacteria solution. The method was of high accuracy and could effectively avoid the errors. (Tran. by YUE Yang)

Key words : analysis and determination ; gas chromatography ; the content of caproic acid

1991年 , 内蒙古河套酒业集团股份有限公司开始制作己酸菌液 ,其己酸含量的测定一直是采用 721 型分光光度计——比色法测定。己酸菌液质量的好坏直接影响“河套老窖”原酒的质量。

2002年初 ,由于试验工作的需要 ,我公司技术中心化验室取己酸菌液进行蒸馏 ,并采用直接进样法在色谱毛细管柱上进行检测 ,结果发现己酸菌液中除了己酸外 ,还含有乙酸、丁酸等 ,而且己酸的色谱分析值较比色法分析值相差几倍。

为了弄清楚哪种方法测定的结果更准确可靠 ,对这两种方法进行了研究与探讨。

1 比色法、色谱法分析测定结果比较

基于以上的原因 ,我们对己酸菌液采用两种方法进行测定、比较 ,其测定结果见表 1。

表 1 己酸菌液中己酸含量的分析测定结果 (mg/100 ml)			
比色法测定 己酸含量	色谱毛细管柱分析		
	乙酸	丁酸	己酸
460	65.0	32.1	88.2
460	114.4	47.8	90.6
525	68.0	55.8	161.8
565	55.8	26.6	97.3
1120	61.1	43.2	152.8

表 1 说明 ,用比色法测定的己酸含量值与蒸馏后气相色谱毛细管柱分析值多出几倍 ,且毛细管柱还分析出了乙酸、丁酸。

为了进一步验证核实 ,又分别取乙酸、丁酸、乳酸、己酸等单体物质配成一定浓度的单体混合标准样 ,用比色法测定己酸含量的方法检测了此标准样 ,发现乙酸、丁酸和己酸显色一样 ,都是蓝色 ,

而乳酸不显色。这说明此种比色法在波长 660 nm 的情况下 ,乙酸、丁酸对己酸含量的测定有较大影响。己酸、乙酸、丁酸、乳酸的比色结果见表 2。

表 2 4 种单体酸比色测定结果 (mg/100 ml)		
项目	单体标准样浓度	测定己酸的比色法测定值
乙酸	514.0	300
丁酸	469.92	290
己酸	455.23	505
乳酸	999.2	—

从比色法测定数据情况分析 ,己酸菌液中乙酸、丁酸的含量在比色法分析中表现为己酸的含量 ,因此 ,采用 721 型分光光度计——比色法测定己酸含量的方法是不够准确的 ,仍需进一步探讨与研究。

2 色谱毛细管柱测定己酸方法的分析与研究

综合考虑影响比色法分析及蒸馏后色谱毛细管柱分析的诸多因素 ,认为在蒸馏过程中酸的提出率是一个重要因素。因此 ,我们进一步将乙酸、丁酸、己酸单体物质 (含量不低于 98 %)配制成含量不同的混合标准样 ,然后在水溶液中进行蒸馏 ,再经色谱毛细管柱分析 ,蒸馏提出率测定结果见表 3。

表 3 说明了不同的酸在水溶液中有不同的蒸馏提出率。我们采用蒸馏提取系数值的倒数来表示蒸馏提出率 ,则蒸馏提取系数值=1/蒸馏提出率。

乙酸、丁酸、己酸在水溶液中的蒸馏提取系数值见表 4。

(下转第 82 页)

收稿日期 2003-04-16

作者简介 :罗维 (1941-) ,男 ,河北沧县人 ,大专 ,高级工程师 ,总工程师 ,发表论文 10 余篇 ,多次荣获省、地市级科技进步奖。

对白酒中的乳酸进行有效的定性定量分析, 酒样中乳酸的含量可在显色后与乳酸标准系列管的比色中得出^[2]。

3 综合法

综合法是指利用理化分析和色谱分析数据, 求取乳酸的含量。

根据陈周平对浓香型白酒的测定结果, 己酸、乙酸、乳酸、丁酸 4 种酸占有有机酸总量的 90 % 以上^[3], 以总酸含量减去色谱柱流出各单一酸种的含量即得乳酸的含量。

3.1 总酸的测定

总酸的测定方法遵循 GB/T10345.4-89 中规定的方法, 因此, 它测得的是白酒中所有酸含量的总和, 记为 $A_{\text{总}} \text{ g/L}$ (以乙酸计)。

3.2 毛细管测定白酒中有机酸

色谱柱采用 PEG20M 柱、FFAP 柱、HP-INNONax 柱均可。

3.2.1 仪器及色谱条件

气相色谱仪: 天美 7890 II 型, 配 FID 检测器; 色谱柱: 本文采用键合石英毛细管柱 FFAP $\phi 0.33 \text{ mm} \times 25 \text{ m}$; 程升条件: 起始温度 50°C , 恒温 2 min 后以 3.5°C/min 速率升至 110°C , 继续恒温约 10 min, 分流比 1:30。

3.2.2 操作

进样 $1 \mu\text{l}$, 以面积三内标法设置, 求取色谱组分结果。

色谱结果: FFAP 柱在上述条件下测定浓香型白酒时, 可定量求出乙酸 (记为 $A_{\text{乙}} \text{ g/L}$) 下同、丙酸 ($A_{\text{丙}} \text{ g/L}$)、丁酸 ($A_{\text{丁}} \text{ g/L}$)、异丁酸 ($A_{\text{异丁}} \text{ g/L}$)、戊酸 ($A_{\text{戊}} \text{ g/L}$)、己酸 ($A_{\text{己}} \text{ g/L}$)、庚酸 ($A_{\text{庚}} \text{ g/L}$)、辛酸 ($A_{\text{辛}} \text{ g/L}$)。

3.3 乳酸含量的求取

根据陈周平对浓香型白酒的测定, 白酒中的有机酸含量有下列趋势: 乙酸 > 己酸 > 乳酸 > 丁酸 > 甲酸 > 戊酸 > 棕榈酸 > 亚油酸 > 油酸 > 辛酸 > 异丁酸 > 丙酸 > 异戊酸 > 庚酸^[2], 而乙酸、己酸、乳酸、丁酸的含量加上辛酸、异丁酸、戊酸、庚酸、丙酸的含量占其总酸含量的 95 % 以上, 其他的酸特别是高级脂肪酸的含量只有在发酵期较长的优质酒中才有一定的含量, 在一般发酵期和一般质量的酒中, 含量甚微, 因此, 未测出的有机酸基本都可以忽略不计。所以乳酸的含量求得为:

$$A_{\text{乳酸}} = A_{\text{总}} - A_{\text{乙}} - A_{\text{己}} - A_{\text{丁}} - A_{\text{异丁}} - A_{\text{丙}} - A_{\text{戊}} - A_{\text{辛}} - A_{\text{庚}}$$

式中: 各值均以乙酸计。

4 分析讨论

色谱直接进样法测定白酒中的乳酸在理论上是一种最快、最准确的方法, 但到目前为止, 还没有真正找到一根既经济、分离效果又好、经久耐用, 且较易制备的色谱柱。因此, 它只能作为白酒色谱的一个发展方向, 目前, 尚不能广泛有效地应用于白酒厂家进行工业分析检测。

酯化处理间接进样法测定白酒中乳酸, 也是一种较准确的定量办法, 它同直接进样法相比, 有一定的可操作性。目前, 凡是采用 1,4-丁二醇丁二酸酯 (BDS) 或聚二甘醇己二酸酯 (LAC-L-R-296) 作固定液的色谱柱大多可以测定酯化后的有机酸^[3], 但是此法操作繁琐, 时间长, 不易掌握, 且此类色谱柱也没有被广泛使用, 因此也不适合大多数中小型白酒企业。

比色法是一种常规化学分析方法, 比色谱法可操作性都要强, 但由于比色法一般显色时间都较长, 还容易受其他物质干扰, 对实验条件要求较严, 也不是标准的分析方法, 因此此法也使用不多。

综合法采用 GB/T10345.4-89 中的方法测定白酒中的总酸, 采用小口径毛细管常规色谱法测定酒中的单体酸 (色谱柱采用 PEG20M 柱、FFAP 柱、HP-INNONax 柱均可), 这种分析方法是大多数白酒厂家经常使用的, 不需人员培训, 也不需另外增加设备投入, 因此, 它操作简单, 易行, 实验结果也能满足一般的分析要求, 是 4 种方法中最实用最简便的方法。

参考文献:

- [1] 程劲松, 胡国栋. 填充柱气相色谱法直接进样分析白酒中的乳酸和脂肪酸含量[J]. 酿酒科技, 2002, (2): 77-78.
- [2] 凌希利, 张永华. 比色法测定白酒中乳酸含量[J]. 酿酒科技, 1983, (2): 19-21.
- [3] 周恒刚, 等. 白酒品评与勾兑[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1993.
- [4] 天津轻工业学院, 等. 工业发酵分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.

(上接第 83 页)

表 3 乙酸、丁酸、己酸水溶液蒸馏提出率测定值

(mg/100 ml)				
项目	配制标准含量	蒸馏后色谱分析结果	蒸馏提出率 (%)	蒸馏提出率平均值 (%)
乙酸	514.01	285.6	55.6	55.4
	1028.02	574	55.8	
	822.416	427	51.9	
	514.01	286.6	55.8	
	411.208	240.78	58.6	
丁酸	469.42	440.8	93.9	90
	938.841	810.2	86.3	
	469.42	432.0	92.0	
	375.54	345.2	91.9	
	751.072	642	85.4	
己酸	454.23	337	74.2	73
	908.46	617.7	68.0	
	454.23	363.4	80.0	
	726.768	519	71.4	
	363.38	275.88	75.9	

通过对此几种酸在水溶液中的蒸馏研究, 我们确定了己酸菌

表 4 乙酸、丁酸、己酸在水溶液中的蒸馏提取系数值

项目	乙酸	丁酸	己酸
蒸馏提出率平均值 (%)	55.4	90	73
蒸馏提取系数值	1.805	1.111	1.370

液中己酸含量的分析方法是: 将己酸菌液蒸馏后, 用色谱分析出蒸馏液中的己酸含量, 以此再乘以己酸对应的蒸馏提取系数值。即:

$$\text{己酸菌液中的己酸含量} = \text{蒸馏后色谱测定值} \times 1.370$$

同理, 乙酸 (或丁酸) 含量 = 蒸馏后色谱测定值 $\times$ 乙酸 (或丁酸) 对应的蒸馏提取系数值

3 结果与讨论

3.1 通过蒸馏己酸菌液, 然后用色谱测定其中的己酸含量, 比使用 721 型分光光度计检测己酸菌液中的己酸含量科学准确, 避免了因乙酸、丁酸等而导致的误差。

3.2 通过对乙酸、丁酸、己酸在水溶液中进行蒸馏、测定分析, 为在水溶液中确定乙酸、丁酸、己酸的含量提供了科学的依据。

3.1 本方法是否适用于水溶液中其他有机酸含量的准确定量, 仍需进一步的研究。●