

气相色谱内标法测定白酒中甲醇含量

冯俊富, 朱飞如*

(北海市食品药品检验所, 北海 536000)

摘 要: **目的** 建立气相色谱内标法测定白酒中甲醇含量的方法。**方法** 选择色谱柱为 HP-INNOWAX 石英毛细管柱, 载气为氮气, 流速为 2.0 mL/min。检测器为火焰离子化检测仪(flame ionization detector, FID), 温度为 250 °C; 进样口温度为 200 °C; 分流比为 5:1; 采用液体直接进样, 溶剂为 40%(V/V)乙醇, 内标物质为叔戊醇。**结果** 被测物甲醇和内标物质叔戊醇均能得到很好的分离, 空白溶剂无干扰; 在线性范围 100.9~1008.6 mg/L 内, 方法线性方程为 $Y=0.002155X+0.012511$, 相关系数为 0.9999; 方法检出限为 5.0 mg/L、定量限为 16.7 mg/L; 平均回收率分别为 96.8%~99.6%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)不超过 0.45% **结论** 方法操作简单, 进样时间短, 数据准确, 重复性好, 适用于白酒中甲醇含量的检测。

关键词: 气相色谱法; 内标法; 白酒; 甲醇

Determination of methanol in liquor by internal standard method of gas chromatography

FENG Jun-Fu, ZHU Fei-Ru*

(Beihai food and Drug Inspection Institute, Beihai 536000, China)

ABSTRACT: Objective To develop a method for determination of methanol in liquor by internal standard method of gas chromatography. **Methods** HP-INNOWAX quartz capillary column was chosen as the chromatographic column, and the carrier gas was nitrogen, with the 2.0 mL/min flow rate. The detector was flame ionization detector(FID) and the temperature was 250 °C; The inlet temperature was 200 °C and the split ratio was 5:1. The sample was directly injected by liquid, the solvent was 40%(V/V) ethanol, and the internal standard material was tert-amyl alcohol. **Results** Both the test substance methanol and the internal standard substance tert-amyl alcohol were well separated without the interference from blank control. In the linear range of 100.9-1008.6 mg/L, the linear equation of the method was $Y=0.002155X+0.012511$, with a correlation coefficient 0.9999. The detection limit was 5.0 mg/L and the quantitative limit was 16.7 mg/L. The average recoveries were 96.8%-99.6%, and the relative standard deviation (RSD) no more than 0.45%. **Conclusion** The method has the advantages of simple operation, short injection time, accurate data, and good repeatability and can be used for the determination of methanol content in liquor.

KEY WORDS: gas chromatography; internal standard method; liquor; methanol

*通讯作者: 朱飞如, 助理工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 512267807@qq.com

*Corresponding author: ZHU Fei-Ru, Assistant Engineer, Beihai food and Drug Inspection Institute, Xinchiji Avenue, Yinhai District, Beihai 536000, China. E-mail: 512267807@qq.com

1 引言

我国酿酒行业历史悠久,白酒是一种传统的蒸馏酒,白酒的香型分为酱香型、清香型、浓香型、米香型和兼香型等^[1,2]。至今,饮酒仍是老百姓喜庆节日上不可缺少的仪式。在传统工艺上,白酒是由粮食经过微生物发酵,再经过蒸煮配制而来。有些不法分子用工业酒精勾兑而成,造成白酒中甲醇含量超标。近年来,酿酒行业推行配制酒^[3],用薯类和糖蜜生产酒精,避免耗用大量粮食,若是工艺控制不好,也容易造成甲醇超标。随着人民生活水平的提高,大家对白酒的需求量越来越多,市场上出现的白酒种类也越来越多。在白酒发酵制作过程当中,会有甲醇的产生,它是由原料和辅料中果胶质内甲基酯分解而成^[4]。甲醇在体内可以代谢氧化为甲酸和甲醛,甲酸的毒性比甲醇大 6 倍,甲醛的毒性比甲醇大 30 倍^[5]。甲醇具有神经毒性,能损害人体的呼吸道粘膜和视力,甲醇饮用过量会引起双目失明,严重会导致死亡。

白酒中甲醇的含量有明确的规定值,根据 GB 2757-2012《食品安全国家标准 蒸馏酒及其配制酒》^[6],粮谷类不得超过 0.6 g/L,其他类不得超过 2.0 g/L(甲醇的指标均按 100%酒精度折算)。精准对白酒中的甲醇含量的检测具有重要意义,不仅可以帮助企业严格控制生产工艺,从而确保甲醇含量在规定限值以下提供技术支持,也可为加强市场监管提供重要的技术服务,为人民群众的生命安全提供重要的保障。查阅相关文献报道,白酒中甲醇的含量测定的方法有分光光度法^[7]、显色法^[8]、高效液相色谱法^[9]、近红外光谱法^[10]和气相色谱法^[11],也有对葡萄酒、啤酒中甲醇进行检测的相关研究^[12,13]。目前测定白酒中甲醇用到最主要的方法是气相色谱法,方法具有高效、快速而灵敏的分离分析技术以及样品用量少、分离快而且分离度高等优点。甲醇的测定气相色谱法有内标法和外标法,相关资料也对这 2 种方法进行了比较,各有优点,但内标法更加精准^[14]。本研究采用气相色谱内标法测定白酒中甲醇含量,在 GB 5009.266-2016《食品安全国家标准 食品中甲醇的测定》^[15]的基础上对进样量、分流比和色谱柱的选择进行了优化,以期对白酒中甲醇含量的准确测量提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器

Agilent 7890B 气相色谱仪,配有火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID)(美国安捷伦科技有限公司);XA205DU 电子天平[$\text{MAX } 81 \text{ g}/220 \text{ g}$, $d=0.01 \text{ mg}/0.1 \text{ mg}$,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

2.1.2 试剂与样品

甲醇对照品(含量: 99.9%)、内标叔戊醇(含量

99.7%)(美国 TM Standard 公司);乙醇(色谱纯,德国默克公司)。样品: 10 批市售不同厂家白酒。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

色谱柱: HP-INNOWAX 石英毛细管柱($30 \text{ m} \times 0.530 \text{ mm} \times 1.00 \mu\text{m}$);载气为氮气,流速: 2.0 mL/min ,分流比为 5: 1;氢气: 40 mL/min ;空气: 400 mL/min ;检测器温度: $250 \text{ }^\circ\text{C}$;进样口温度: $200 \text{ }^\circ\text{C}$;程序升温: 初始温度 $40 \text{ }^\circ\text{C}$,保持 1 min,以 $4 \text{ }^\circ\text{C/min}$ 升温至 $75 \text{ }^\circ\text{C}$,再以 $40 \text{ }^\circ\text{C/min}$ 升温至 $210 \text{ }^\circ\text{C}$,保持 5 min。进样量: $0.3 \mu\text{L}$ 。

2.2.2 溶液的制备

(1) 内标溶液的制备

精密称取叔戊醇 0.5020 g ,用 40%乙醇(V/V)溶液溶解并定容至 25 mL ,摇匀,作为内标溶液。

(2) 甲醇标准储备溶液的制备

精密称取甲醇标准溶液 0.5048 g ,用 40%乙醇(V/V)溶液溶解并定容至 100 mL ,摇匀,作为甲醇标准储备溶液。

(3) 甲醇标准溶液的制备

精密量取甲醇标准储备溶液 0.2 、 0.4 、 0.8 、 1.2 、 1.6 、 2.0 mL ,置 10 mL 容量瓶中,加 40%乙醇溶液稀释至刻度,摇匀。制成 100.9 、 201.7 、 403.4 、 605.2 、 806.9 、 1008.6 mg/L 的系列标准溶液。

(4) 空白溶液的制备

用 40%乙醇溶液定容至 10 mL ,作为空白溶液。

2.2.3 专属性实验

取样品定容至 10 mL 容量瓶,加入 0.1 mL 内标溶液,摇匀,作为供试品溶液。按 2.2.1 节色谱条件进行测定。

2.2.4 标准曲线绘制

在上述系列标准溶液中分别加入 0.1 mL 内标溶液,摇匀。按 2.2.1 节色谱条件进行测定,记录色谱图,以甲醇峰面积与叔戊醇的峰面积比值为纵坐标(Y),以标准溶液的浓度(mg/L)为横坐标(X),绘制标准曲线。

3 结论与分析

3.1 方法优化

3.1.1 进样量的选择

GB 5009.266-2016 中的方法进样量为 $1 \mu\text{L}$,用此方法进 $1 \mu\text{L}$,发现线性不稳定,当选择 0.3 和 $0.5 \mu\text{L}$ 进样量,标准曲线的相关系数分别为 0.99993 、 0.99991 ,均满足线性要求,相对来说 $0.3 \mu\text{L}$ 进样量的线性更好,故本研究选择进样量为 $0.3 \mu\text{L}$ 。

3.1.2 分流比的选择

GB 5009.266-2016 中的方法分流比为 20:1,此方法试用 2:1; 5:1; 10:1; 20:1 进样,以基线噪音的 3 倍计算得到的检出限结果分别为 2.2 、 5.0 、 9.5 、 15.8 mg/L ,结果发现分流比越小,响应值越高,同时杂质峰响应值也会提高,在

保证检出限低于 GB 5009.266-2016 检出限 7.5 mg/L 的情况下, 综合考虑本研究选择分流比为 5:1。

3.1.3 色谱柱的选择

选择色谱柱有 HP-INNOWAX(30 m)、DB-WAX、HP-INNOWAX(60 m)等进行考察, 同进中等加标水平溶液, 3 种色谱柱中甲醇理论塔板数分别为 54666、2761、14191, 甲醇与相邻杂质峰分离度分别为 1.77、1.18、1.30。经对比, HP-INNOWAX(30 m)的理论塔板数高, 分离度好, 色谱柱峰型好。故选择 HP-INNOWAX(30 m)。

综上所述, 本方法与 GB 5009.266-2016 相比, 标准溶液配置步骤减少, 进样时间缩短, 适合于大批量检测。

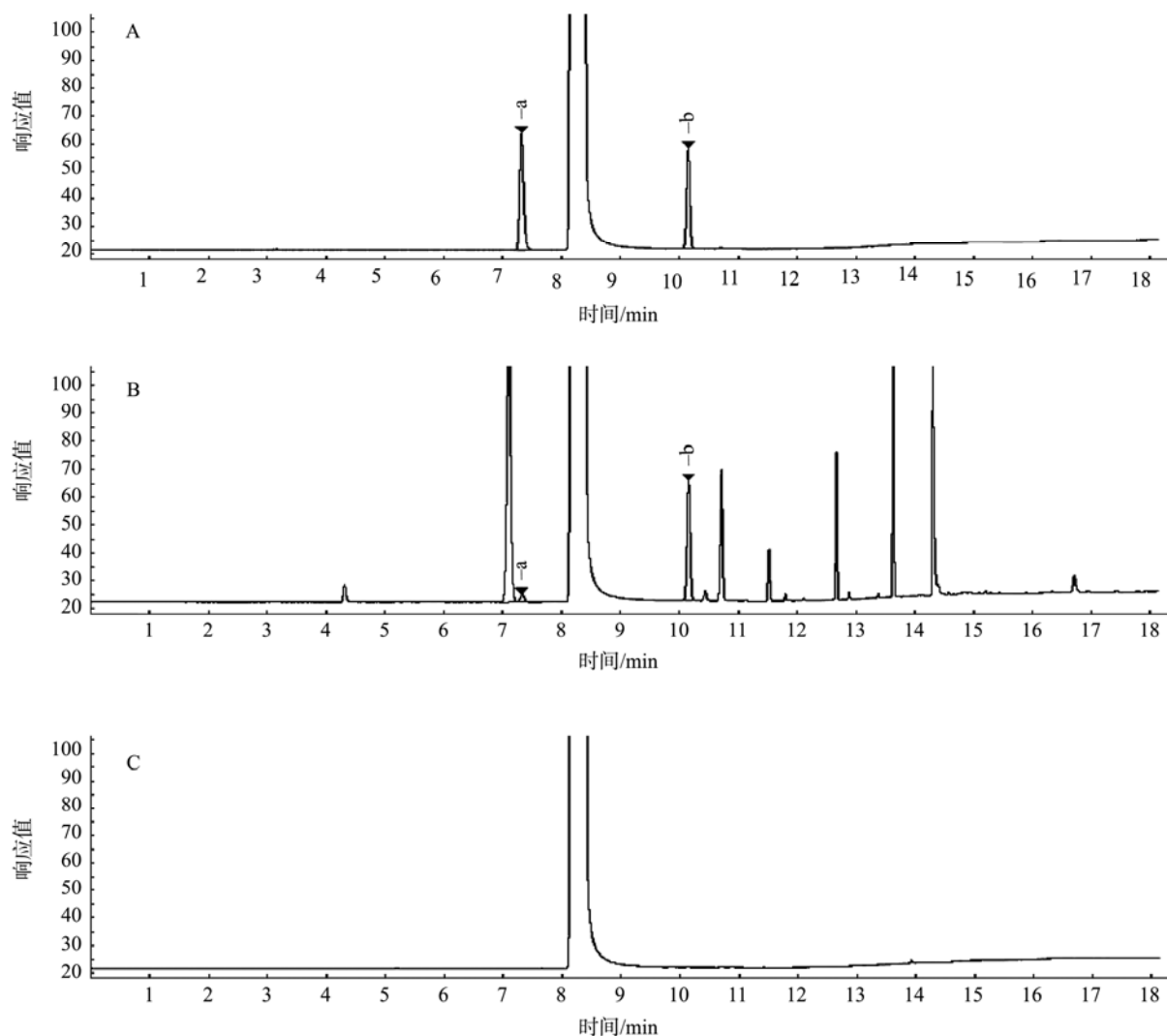
3.2 专属性实验结果

对照品溶液、供试品溶液和空白溶剂色谱图见图 1。

结果表明, 空白溶液在甲醇出峰处无杂质干扰, 样品甲醇与相邻杂质峰分离度为 1.96, 符合要求。

3.3 方法线性关系和灵敏度

在线性范围 100.9 ~ 1008.6 mg/L 内, 方法的线性方程为 $Y=0.002155X+0.012511$, 相关系数为 0.9999, 线性关系良好。精密量取甲醇标准储备溶液 50 μL , 置于 10 mL 容量瓶中, 加入 0.1 mL 内标溶液, 摇匀即得, 按 2.2.1 节色谱条件进行测定, 以基线噪音的 3 倍计算, 得到甲醇的检出限为 5.0 mg/L; 以基线噪音的 10 倍计算, 得到甲醇的定量限为 16.7 mg/L。检出限小于 GB 5009.266-2016 检出限 7.5 mg/L, 此方法定量限小于 GB 5009.266-2016 定量限 25 mg/L, 灵敏度高。



注: A 对照品溶液; B 供试品溶液; C 空白溶剂; a. 甲醇; b. 叔戊醇。

图 1 对照品溶液、供试品溶液和空白试剂色谱图

Fig.1 Chromatogram of reference solution, test solution and blank reagent

3.4 方法精密度和重复性

精密加入 2.2.2 节甲醇标准储备溶液 0.2、0.8、1.6 mL，分别置 10 mL 容量瓶中，加样品稀释至刻度，加入 0.1 mL 内标溶液，摇匀即得。3 个浓度水平的溶液各 3 份，按 2.2.1 节色谱条件进行测定，计算回收率。结果见表 1，回收率良好。

取中等加标水平溶液法，按照 2.2.1 节色谱条件进样，进行 6 次重复实验，计算甲醇含量，得到相对标准偏差

(relative standard deviation, RSD)为 0.65%，结果表明，本法的重复性良好。

3.5 实际样品测定

分别取 10 批市售不同厂家和批号白酒(有米香型、清香型、浓香型、兼香型)，按“2.2.1”项下色谱条件进行测定，其中 3 批有检出，检出值(按酒精度 100%折算)分别为 0.06、0.02、0.03 g/L，其他均低于方法检出限。

表 1 甲醇加标回收率试验结果(n=3)
Table 1 Test results of recovery rate of methanol standard addition(n=3)

对照品加入量/(mg/L)	测得的总量/(mg/L)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
100.9	97.9	97.0	96.8	0.21
	97.5	96.6		
	97.7	96.8		
403.4	394.4	97.8	98.3	0.45
	397.4	98.5		
	397.9	98.6		
806.9	805.1	99.8	99.6	0.21
	802.0	99.4		
	803.7	99.6		

4 结论与讨论

本研究建立了气相色谱内标法测定白酒中甲醇含量的方法，该方法操作简单，相比 GB 5009.266-2016 的检测方法缩短检测时间，利于进行大批量进样。本方法采用内标法，方法结果准确，回收率良好，重复性好，检测效率高，适用于白酒中甲醇含量的检测。

参考文献

[1] 邓莉. 白酒挥发性组分的气相色谱-质谱分析[J]. 食品工业, 2018, 39(6): 320-322.
Deng L. Analysis of volatile components in liquor by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Ind, 2018, 39(6): 320-322.

[2] 杨路, 张毅, 杨玲, 等. 几种现代分析方法在白酒检测中的应用现状[J]. 食品与发酵科技, 2014, 50(4): 9-13.
Yang L, Zhang Y, Yang L, et al. Application of several modern analytical methods in liquor detection [J]. Food Ferment Technol, 2014, 50(4): 9-13.

[3] 龚文昌. 节约粮食提倡酒精改制白酒[J]. 酿酒科技, 1996, (2): 79-80.
Gong W. Saving grain and advocating alcohol to make liquor [J]. Liquor Mak Sci Technol, 1996, (2): 79-80.

[4] 狄红梅, 李艳敏, 张立严. 气相色谱内标法测定白酒中甲醇含量的确认及应用[J]. 酿酒科技, 2018, (2): 62-64.
Di HM, Li YM, Zhang LY. Determination and application of methanol content in liquor by gas chromatography internal standard method [J]. Liquor Mak Sci Technol, 2018, (2): 62-64.

[5] 张明赞, 何腊平, 张义明. 白酒中甲醇、甲醛、氰化物和金属离子的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(9): 3563-3566.
Zhang MZ, He LP, Zhang YM. Research progress of methanol, formaldehyde, cyanide and metal ions in liquor [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(9): 3563-3566.

[6] GB 2757-2012 食品安全国家标准 蒸馏酒及其配制酒[S].
GB 2757-2012 National food safety standard-Distilled liquor and its preparation [S].

[7] GB/T 5009.48-2003 蒸馏酒与配制酒卫生标准的分析方法[S].
GB/T 5009.48-2003 Analysis method of hygienic standard for distilled liquor and prepared liquor [S].

[8] 李红洲, 彭小东, 谭小君, 等. 白酒中甲醇检测方法研究进展[J]. 酿酒科技, 2017, (7): 99-101, 141.
Li HZ, Peng XD, Tan XJ, et al. Research progress of methanol detection method in liquor [J]. Liquor Mak Sci Technol, 2017, (7): 99-101, 141.

[9] Chen SH, Wu HL, Ye CH. Trace determination of methanol in water-ethanol solution by determination and high-performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr, 1998, (799): 93-99.

[10] 刘建学, 郭玉娜, 李璇, 等. 近红外光谱法快速检测白酒基酒中甲醇含量[J]. 河南科技大学学报(自然科学版), 2018, 29(5): 78-88.
Liu JX, Guo YS, Li X, et al. Rapid determination of methanol content in base liquor by near infrared spectroscopy [J]. J Henan Univ Sci Technol (Nat Sci Ed), 2018, 29(5): 78-88.

[11] 贾偶然. 酒精中甲醇含量检测方法[J]. 现代食品, 2016, (23): 65-67.
Jia OR. Determination method of methanol content in alcohol [J]. Mod Food, 2016, (23): 65-67.

[12] 张广芳, 曾桂凤, 曾令文. 自酿葡萄酒中甲醇和杂油醇检测分析[J]. 中国食品添加剂, 2016, (5): 141-146.
Zhang GF, Zeng GF, Zeng LW. Detection and analysis of methanol and fusel alcohol in home-made wine [J]. Chin Food Addit, 2016, (5): 141-146.

[13] 李培, 闫峰, 牛伟涛, 等. 啤酒中甲醇含量的测定[J]. 现代食品, 2017, (23): 101-103.
Li P, Yan F, Niu WT, *et al.* Determination of methanol content in beer [J]. Mod Food, 2017, (23): 101-103.

[14] 陈静, 李桂英, 张自然, 等. 葡萄蒸馏酒中甲醇检测方法的比较[J]. 钦州学院学报, 2019, (7): 30-33.
Chen J, Li GY, Zhang ZR, *et al.* Comparison of methanol detection methods in grape distilled wine [J]. J Qinzhou Univ, 2019, (7): 30-33.

[15] GB 5009.266-2016 食品安全国家标准 食品中甲醇的测定[S].
GB 5009.266-2016 National food safety standard-Determination of methanol in food [S].

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介

冯俊富, 主管药师, 主要研究方向为
食品安全检测。
E-mail: 512267807@qq.com

朱飞如, 助理工程师, 主要研究方向
为食品质量与安全。
E-mail: 512267807@qq.com