

气相色谱法测定低酒精度饮料中乙醇的含量

Determination the content of ethanol in low alcohol beverages by gas chromatography

陈国通¹ 毛琼玲¹ 左书瑞²

CHEN Guo-tong¹ MAO Qiong-ling¹ ZUO Shu-rui²

陈俊宇¹ 王爱霞¹ 邵家丽¹

CHEN Jun-yu¹ WANG Ai-xia¹ SHAO Jia-li¹

(1. 新疆维吾尔自治区分析测试研究院, 新疆 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆维吾尔自治区职业病防治院, 新疆 乌鲁木齐 830011)

(1. Xinjiang Academy of Analysis and Testing, Urumqi, Xinjiang 830011, China; 2. The Xinjiang Uygur Autonomous Region Occupation Disease Prevention and Control Center, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

摘要:分别采用静态顶空气相色谱法与传统蒸馏后进样的气相色谱法测定低酒精度饮料中乙醇含量。选用 TG-WAXMS 色谱柱。2 种方法在乙醇体积分数为 0.01%~5.00% 时均具有良好的线性关系。传统蒸馏法乙醇的体积分数检出限为 0.003%, 静态顶空法检出限为 0.001%。试验结果表明传统蒸馏后进样的气相色谱法由于前处理步骤繁琐, 导致回收率相对较低(83%~91%)。而静态顶空法直接测定饮料中乙醇的方法具有前处理简单, 待测物质乙醇不易损失等优点, 回收率为 97%~100%。

关键词:低酒精度饮料; 乙醇; 静态顶空; 蒸馏法; 气相色谱

Abstract: The ethanol content of beverages was measured by two methods, the static headspace gas chromatography and the traditional method of gas chromatography after distillation, using TG-WAXMS chromatographic column. The two methods had good linear relationship in the volume fraction of ethanol ranging from 0.01% to 5.00%. In traditional distillation method, the detection limit of volume fraction of ethanol was 0.003%, and the detection limit of static headspace was 0.001%. The results showed that due to the complicated pre-treatment processes, the recovery rate of the gas chromatography after traditional distillation was relatively low (83%~91%). While the method of direct determination of ethanol in the beverage by static headspace method was simple, and kept the ethanol stable during the detection. The recovery rate was between 97% and 100%.

基金项目:新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目(编号:KYGY2016200)

作者简介:陈国通(1984—), 男, 新疆维吾尔自治区分析测试研究院助理研究员, 硕士。E-mail: 273881856@qq.com

收稿日期:2017-12-13

Keywords: low alcohol beverages; ethanol; static headspace; distillation; gas chromatography

饮料可分为含酒精饮料和无酒精饮料^[1], 无酒精饮料又称软饮料, 是指酒精体积分数小于 0.5%, 以补充人体水分为主要目的流质食品, 包括碳酸类饮料、果蔬汁饮料、茶类饮料、乳饮料等。其中的一些无酒精饮料在生产发酵过程中也会产生少量的酒精, 如果过量饮用这些饮料后驾驶机动车, 可能会造成酒精测试结果属于酒后驾驶。为了避免这种情况发生, 有必要对无酒精以及低酒精度饮料中乙醇的含量进行测定。

饮料中乙醇含量的测定方法包括气相色谱法^[2-4]、酒精计法^[5]、碘量滴定法^[6]、近红外光谱^[7-8]等方法。但是上述方法均需要对样品进行蒸馏等复杂的前处理操作且误差大。并且低酒精度饮料中的乙醇含量都比较低, 一般不易准确测出^[9]。而静态顶空气相法具有前处理简单且不受非挥发组分干扰等优点, 常用于测定挥发性及半挥发性有机物。林秋婕等^[10]利用顶空气相色谱法测定紫杉醇注射液中乙醇含量, 但是利用静态顶空气相色谱法测定低酒精度饮料尚未见报道。鉴于此, 本试验采用静态顶空气相法直接测定饮料中乙醇含量, 并与传统蒸馏后进样的气相色谱法进行比较。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

植物饮料(外包装中未注明是否含有酒精及酒精含量等信息): 市售;

乙醇: 色谱纯, 天津市福晨化学试剂厂;

试验用水为超纯水: 电阻率 $\geq 18.3 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$, 实验室通

过 Millipore 超纯水系统自制。

1.1.2 主要仪器设备

气相色谱仪:GC-2010 plus 型,配有氢火焰离子化检测器,日本岛津公司;

自动顶空进样器:HS-20 型,配 20 mL 顶空瓶,日本岛津公司;

电子天平:X5204 型,瑞士梅特勒-托利多国际贸易有限公司。

1.2 方法

1.2.1 仪器条件 色谱柱: TG-WAXMS 石英毛细柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), HP-5 石英毛细柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);升温程序: 40 ℃ 保持 5 min, 以 20 ℃/min 升至 170 ℃, 保持 1 min;载气: 氮气;载气流速: 1.0 mL/min;压力: 74.3 kPa;进样量: 1.0 μL;分流比: 20:1;空气流速: 400 mL/min;氢气流速: 40 mL/min;尾吹气流速: 30 mL/min;检测器温度: 300 ℃。

进样方式: 直接进样与自动顶空进样。

直接进样: 进样口温度: 190 ℃;进样量: 1 μL 标液;自动进样器: AOC-20i+s。

顶空条件: 炉温 60 ℃ 恒温;平衡时间 30 min;进样量: 1 mL 气体;样品流路温度: 150 ℃;传输线温度: 150 ℃。

1.2.2 标准曲线 精密量取恒温至 20 ℃ 的色谱纯乙醇 1, 2, 5, 10, 50, 100, 200, 400, 500 μL 于 10 mL 容量瓶中用超纯水定容。取 1 mL 各标液, 直接进样。另取 1 mL 各标液加入已提前加入 0.3 g 氯化钠的 25 mL 顶空瓶中自动顶空进样。以乙醇含量为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。以信噪比等于 3 为标准, 计算试验条件下乙醇的检出限(LOD)。以信噪比等于 10 为标准, 计算试验条件下乙醇的定量限(LOQ)。

1.2.3 样品处理 蒸馏法: 用洁净、干燥的 100 mL 容量瓶, 准确量取 100 mL 样品(液温 20 ℃)于 500 mL 蒸馏瓶中, 用 50 mL 水分 3 次冲洗容量瓶, 洗液并入 500 mL 蒸馏瓶中, 加几颗沸石(或玻璃珠), 连接蛇形冷凝管, 以取样用的原容量瓶作接收器, 外加冰水浴。开启冷却水, 缓慢加热蒸馏, 收集馏出液。当接近刻度时, 取下容量瓶, 盖塞, 于 20 ℃ 水浴中保温 30 min, 再加水至刻度, 混匀, 备用;静态顶空法^[11]: 准确移取 1 mL 样品加入已提前加入 0.3 g 氯化钠的 25 mL 顶空瓶中, 立即压盖备测。

1.2.4 静态顶空条件优化 平衡温度: 选择乙醇体积浓度为 0.5% 的标准溶液, 分别在 50, 60, 70, 80, 90 ℃, 平衡 30 min, 测定连续进样 6 次的峰面积;平衡时间: 选取乙醇体积分数为 0.5% 的乙醇标准溶液, 60 ℃ 分别平衡 10, 15, 20, 30, 40 min 后顶空进样, 测定其对应的峰面积。

1.2.5 样品测定及加标回收试验

(1) 样品测定: 分别取 6 份各 100 mL 样品选用蒸馏法处理并气相色谱直接进样测定, 另外分别取 6 份各 1.00 mL 样品置于已提前加入 0.3 g 氯化钠的 25 mL 顶空瓶中, 立即压盖, 并于 60 ℃ 下平衡 30 min 后自动顶空进样测定。

(2) 空白加标回收试验: 取 9 个 250 mL 容量瓶分为 A、

B、C 3 组, 分别标记为 A1、A2、A3、B1、B2、B3、C1、C2、C3。A 组加入 1.25 mL 乙醇, B 组加入 2.50 mL 乙醇, C 组加入 5.00 mL 乙醇, 用超纯水定容至标线。从各瓶中取 100 mL 用于蒸馏法处理并气相色谱直接进样测定。另外分别从各瓶中取 1.00 mL 样品置于已提前加入 0.3 g 氯化钠的 25 mL 顶空瓶中, 立即压盖, 并于 60 ℃ 下平衡 30 min 后自动顶空进样测定。A 组理论浓度为 0.5%, B 组理论浓度为 1.0%, C 组理论浓度为 2.0%;回收率按式(1)计算。

$$P = \frac{C_i}{C_t} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

P ——回收率, %;

C_i ——实际测得乙醇浓度, %;

C_t ——乙醇理论浓度, %。

(3) 样品加标回收试验: 取 9 份各 100 mL 样品, 分为 D、E、F 3 组, 分别标记为 D1、D2、D3、E1、E2、E3、F1、F2、F3。D 组加入 0.5 mL 乙醇, E 组加入 1.0 mL 乙醇, F 组加入 2.0 mL 乙醇, 用于蒸馏法处理并气相色谱直接进样测定。另外取 9 份各 1.00 mL 样品置于已提前加入 0.3 g 氯化钠的 25 mL 顶空瓶中, 立即压盖。分组及标记情况同蒸馏法样品加标回收试验。用微量进样针在 G 组加入 5 μL 乙醇, H 组加入 10 μL 乙醇, I 组加入 20 μL 乙醇, 并于 60 ℃ 下平衡 30 min 后自动顶空进样测定。回收率按式(2)计算。

$$P = \frac{(C_2 - C_1) \times V}{V_0}, \quad (2)$$

式中:

P ——回收率, %;

C_1 ——加标前样品乙醇浓度, %;

C_2 ——加标后乙醇浓度, %;

V ——样品体积, mL;

V_0 ——乙醇加入量, mL。

2 结果与分析

2.1 色谱柱选择与进样方式比较

分别选用 TG-WAXMS 色谱柱和 HP-5 色谱柱进行测定, 结果表明 HP-5(弱极性)与 TG-WAXMS(极性)色谱柱均有较好的分离效果, 由于 TG-WAXMS 色谱柱对甲醇和乙醇具有更好的分离效果^[12], 故本试验选用 TG-WAXMS 色谱柱。

传统乙醇测定大多采用蒸馏后进样或用水稀释后直接进样^[13], 本试验分别采用传统蒸馏后进样和顶空后进样 2 种方式对样品进行测定。通过对比, 发现由于乙醇测定的溶剂主要为蒸馏水, 而水汽化膨胀体积较大, 可能会造成在进样口样品蒸汽膨胀出衬管形成“倒灌”, 导致进样重现性较差且峰形不好。故如果采用直接进样法, 建议适当减小进样量。而顶空法具有峰形好, 重现性好, 无干扰的优势, 且对色谱柱有保护作用。顶空进样标准品色谱图见图 1。

2.2 顶空条件优化结果

2.2.1 不同顶空平衡温度下的试验 从表 1 可以看出, 随着温度的升高乙醇峰面积也相应增大, 灵敏度也相应提高。但是过高温度会使测量精密性下降, 并且温度过高后达到乙醇

表 1 不同顶空平衡温度下乙醇峰面积测定结果(平衡时间:30 min)

Table 1 Peak area of ethanol at different headspace equilibrium temperature (equilibrium time: 30 min)

顶空温度/℃	峰面积						RSD/%
50	1 536 691	1 539 981	1 538 745	1 535 956	1 545 834	1 556 671	0.51
60	1 851 823	1 842 814	1 859 917	1 866 763	1 839 786	1 861 815	0.59
70	4 056 734	4 091 278	4 029 629	4 048 379	4 019 106	4 071 025	0.65
80	7 041 823	7 106 187	7 121 965	7 011 909	7 111 564	7 001 206	0.76
90	9 010 685	9 171 769	9 020 431	9 018 137	9 122 319	9 158 256	0.83

的沸点。故本试验选择平衡温度为 60 ℃。

2.2.2 不同顶空平衡时间下的试验 由图 2 可知,峰面积随着时间的延长而增大,但是平衡 30 min 后,峰面积基本不再增加,因此平衡时间选为 30 min。

2.3 标准曲线及检出限

乙醇线性范围、线性方程、相关系数(r)、检出限及定量限结果见表 2。由表 2 可知,2 种方法在体积分数为 0.01%~5.00% 时均有较好的线性关系。

2.4 样品测定及加标回收试验

2.4.1 样品测定结果 由表 3 可以看出,选用传统蒸馏后进样的测定结果较静态顶空后进样的偏低,且相对标准偏差较大。

2.4.2 加标回收试验 为了考查 2 种测定方法的准确度,分别采用空白加标及样品加标 2 种加标方式计算回收率^[14]。空白加标试验中加入的量是已知的,可以避免试样基质乙醇含量不确定性的干扰,考察方法的可行性程度。而样品加标可以充分将基质影响考虑在内,实际应用中不可或缺。

空白加标回收试验测定结果见表 4。

样品加标回收试验测定结果见表 5。回收率计算公式中的样品浓度采用表 3 中样品测得浓度的平均值进行计算。

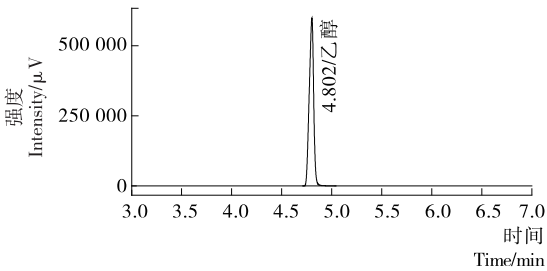


图 1 乙醇体积分数为 0.5% 的标准溶液顶空进样色谱图
Figure 1 Headspace gas chromatography of a standard solution with a concentration of 0.5%

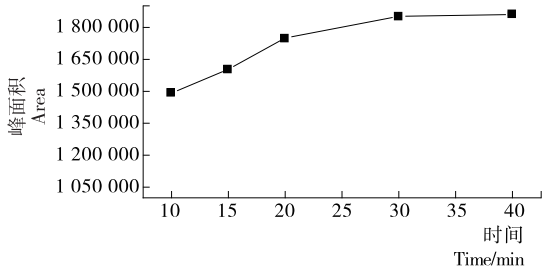


图 2 不同平衡时间下测得乙醇峰面积(体积分数:0.5%)
Figure 2 Ethanol peak area (volume fraction is 0.5%) under different equilibration time

表 2 乙醇线性范围、线性方程、相关系数(r)、检出限及定量限

Table 2 Linear ranges, Linear equations, correlation coefficients (r), detection limits, and quantitative limits of the ethanol

测定方法	线性范围/%	线性方程	r	检出限/%	定量限/%
直接进样	0.01~5.0	$Y=3.804\ 17\times 10^6 X-58\ 114.2$	0.999 8	0.002	0.006
顶空进样	0.01~5.0	$Y=3.867\ 1\times 10^6 X-95\ 203.3$	0.999 8	0.001	0.003

表 3 样品测定结果及相对标准偏差

Table 3 Sample result and relative standard deviation ($n=6$) %

测定方法	测定结果						平均值	RSD
蒸馏法	1.99	2.14	2.10	1.98	2.11	2.15	2.08	3.59
静态顶空法	2.38	2.38	2.37	2.35	2.39	2.36	2.37	0.62

表 4 空白加标回收试验结果

Table 4 Recoveries of blank sample %

测定方法		测定结果				回收率
		1	2	3	平均值	
蒸馏法	A	0.41	0.45	0.43	0.43	86.0
	B	0.84	0.87	0.86	0.86	86.0
	C	1.75	1.79	1.73	1.76	88.0
静态顶空法	A	0.49	0.50	0.50	0.50	100.0
	B	0.99	1.00	0.99	0.99	99.0
	C	1.98	2.00	1.99	1.99	99.5

表 5 样品加标回收试验结果

Table 5 Recoveries of sample %

测定方法		测定结果				回收率
		1	2	3	平均值	
蒸馏法	D	2.52	2.53	2.56	2.54	92.0
	E	2.89	2.91	2.94	2.91	83.0
	F	3.85	3.87	3.83	3.85	88.5
静态顶空法	G	2.85	2.86	2.85	2.85	96.0
	H	3.37	3.36	3.36	3.36	99.0
	I	4.36	4.38	4.38	4.37	100.0

通过对比蒸馏法和静态顶空法 2 个回收试验结果,得出无论是空白加标回收试验还是样品加标回收试验,蒸馏法的回收率相对较低,可能是蒸馏法前处理操作相对繁琐,容易造成目标产物的损失。而静态顶空法的回收率均在 100% 附近。究其原因,静态顶空法的处理步骤简单不易造成目标成分的损失。

3 结论

本试验采用静态顶空气相法与传统蒸馏后进样的气相色谱法 2 种方法测定饮料中乙醇含量。选用 TG-WAXMS 色谱柱。通过比对发现,2 种方法在乙醇体积分数为 0.01%~5.00% 时均具有良好的线性关系。直接进样法会造成大量的水溶剂在进样口气化膨胀溢出衬管形成“倒灌”,导致进样重现性较差且峰形不好;而静态顶空进样可以避免此现象发生。通过空白加标及样品加标 2 种加标试验考察方法的准确度,结果表明传统蒸馏后直接进样的气相色谱法回收率相对较低(83%~91%),是由于该法前处理步骤繁琐且耗时较长,在处理过程中易造成待测物质乙醇的损失;而静态顶空法前处理简单,待测物质乙醇不易损失。

利用静态顶空法测定低酒精度饮料中的乙醇相比传统蒸馏法具有前处理简单、准确度高、重现性好、对色谱柱污染小、不受非挥发组分干扰等优点。另外该法还可以用于类似的低酒精度饮品中乙醇的测定。

参考文献

- [1] 全国食品工业标准化技术委员会酿酒分技术委员会. GB/T 17204—2008 饮料酒分类[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-3.
- [2] 曾诗雨, 赵丽丽, 王可兴, 等. 固相微萃取-气相色谱法测定全麦酒酿中乙醇含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(4): 1397-1403.
- [3] 谢文, 丁慧瑛, 章晓氢. 葡萄酒、果酒中乙醇含量的测定方法[J]. 色谱, 2004, 22(5): 561-561.
- [4] 张红雨, 宋曙辉, 周家华, 等. 紫山药低醇发酵饮料中乙醇含量的气相色谱法测定[J]. 食品工业科技, 2014, 35(1): 307-309.
- [5] 全国食品工业标准化技术委员会酿酒分技术委员会. GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007: 1-3.
- [6] 方北曙, 李翠莲, 曹小彦. 碘量法测定果酒中乙醇的含量的研究[J]. 食品与机械, 1997(6): 33-34.
- [7] LUO Hong-qun, LIU Shao-pu. Direct determination of ethanol in alcohol beverages by multi-wavelength overlapping near-infrared absorption spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 1998, 26(1): 97-99.
- [8] GALLIGNANI Máximo, GARRIGUES Salvador, GUARDIA Miguel De La. Direct determination of ethanol in all types of alcoholic beverages by near-infrared derivative spectrometry[J]. Analyst, 1993, 118(9): 1167-1173.
- [9] 孙巍. 葡萄酒酒精度检测方法的改进[J]. 饮料工业, 2009, 12(3): 36-38.
- [10] 林秋婕, 陈赞民. 顶空气相色谱法测定紫杉醇注射液中乙醇含量[J]. 中国热带医学, 2007, 7(7): 1211-1212.
- [11] 吴伟都, 金世梅, 朱慧. 自动进样顶空气相色谱法测定浓缩果汁中的乙醇[J]. 中国食品添加剂, 2004(5): 97-98.
- [12] 霍晓敏. 气相色谱内标法测定化妆品中的甲醇和乙醇含量[J]. 日用化学品科学, 2012, 35(8): 27-29.
- [13] 孙海彦, 刘恩世, 赵平娟, 等. 气相色谱法和蒸馏-酒精计法测定木薯发酵液中酒精含量的比较[J]. 酿酒科技, 2012(11): 105-107.
- [14] 胡冠九, 李娟, 袁力, 等. 液液萃取-GC-MS法测定水中硝基苯质量控制指标研究[J]. 化学分析计量, 2012, 21(2): 25-28.
- [15] SMYTH S W, CHAMBERLAIN J M, FITZGERALD A J, et al. The interaction between Terahertz radiation and biological tissue[J]. Physics in Medicine & Biology, 2001, 46(9): 101-110.
- [16] MARKELZ A G. Terahertz dielectric sensitivity to biomolecular structure and function[J]. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, 2008, 14(1): 180-190.
- [17] HIRORI H, YAMASHITA K, NAGAI M, et al. Attenuated total reflection spectroscopy in time domain using terahertz coherent pulses[J]. Japanese Journal of Applied Physics Part 2: Letters & Express Letters, 2004, 43(10A): L1287-L1289.
- [18] JEPSEN P U, COOKE D G, KOCH M. Terahertz spectroscopy and imaging-Modern techniques and applications[J]. Laser and Photonics Reviews, 2011, 5(1): 124-166.
- [19] PALIK E D. Handbook of optical constants of solids II[M]. California: Academic Press, 1991: 1067-1077.
- [20] HE Ming-xia, AZAD A K, YE Sheng-hua, et al. Far-infrared signature of animal tissues characterized by terahertz time-domain spectroscopy[J]. Optics Communications, 2006, 259(1): 389-392.
- [21] LI Zhi, GUAN Ai-hong, GE Hong-yi, et al. Wavelength selection of amino acid THz absorption spectra for quantitative analysis by a self-adaptive genetic algorithm and comparison with mwPLS[J]. Microchemical Journal, 2017, 132: 185-189.
- [22] MERNEA M, CALBOREAN O, GRIGORE O, et al. Validation of protein structural models using THz spectroscopy: a promising approach to solve three-dimensional structures [J]. Optical & Quantum Electronics, 2014, 46(4): 505-514.
- [23] Ebbinghaus S, Kim S, Heyden M, et al. An extended dynamical hydration shell around proteins[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(52): 20749-20752.
- [24] 刘畅, 岳凌月, 王新柯, 等. 利用太赫兹反射式时域光谱系统测量有机溶剂的光学参数[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(6): 1471-1475.
- [25] ZHANG Ming-kun, WEI Dong-shan, TANG Ming-jie, et al. Molecular dynamics simulations of conformation and chain length dependent terahertz spectra of alanine polypeptides[J]. Molecular Simulation, 2016, 42(5): 1-7.
- [26] ZHANG Wei, BROWN E R, RAHMAN M, et al. Observation of terahertz absorption signatures in microliter DNA solutions [J]. Applied Physics Letters, 2013, 102(2): 219-222.
- [27] SHEN Y C, UPADHYA P C, LINFIELD E H, et al. Temperature-dependent low-frequency vibrational spectra of purine and adenine[J]. Applied Physics Letters, 2003, 82(14): 2350-2352.

(上接第14页)