

# 气相色谱法测定自酿葡萄酒中 甲醇的含量

郑亚琴,邱艳丽,汪 偶,臧 鑫,李 倩\*

(哈尔滨医科大学药物分析教研室,黑龙江哈尔滨 150000)

**摘要:**目的:针对人们所担忧的葡萄酒中甲醇含量超标的问题,本实验建立一种测定自酿葡萄酒中的甲醇含量的方法。方法:采用气相色谱法对葡萄酒中的杂质甲醇进行定量检测。色谱条件:固定相为GsBP-InoWAX毛细管柱,柱温为90℃,载气为氮气,流速为1.4 mL/min;以氢焰离子化检测器(FID)为检测器,温度为200℃;进样口温度为150℃。结果:该方法在16~1000 μg/mL的浓度范围内线性关系良好( $R^2=0.9987$ ),精密密度为1.2%,回收率为90.03%~94.00%。结论:该方法快速准确,分析成本低,能够满足快速分析自酿葡萄酒中甲醇的要求。

**关键词:**气相色谱,甲醇,自酿葡萄酒

## Determination of methanol in self-made wine by gas chromatography

ZHENG Ya-qin, QIU Yan-li, WANG Ou, ZANG Xin, LI Qian\*

(Department of Pharmaceutical Analysis of Harbin Medical University, Harbin 150000, China)

**Abstract:** Objective: The aim of this investigation was to develop a method to detect methanol quantitatively in self-made wine. Methods: Using gas chromatography for quantitative detection of methanol in wine. The chromatographic conditions: stationary phase was capillary column of GsBP-InoWAX, column temperature: 90℃, carrier gas: nitrogen, flow rate: 1.4 mL/min; hydrogen flame ionization detector (FID) as the detector, the temperature was 200℃; the inlet temperature was 150℃. Results: The data showed that in the concentration range of 16~1000 μg/mL, a good linear relationship ( $R^2=0.9987$ ). The method was validated with a good accuracy and the relative standard deviation (RSD) was 1.2%. Recovery was between 90.03%~94.00%. Conclusion: Quick and relatively low-cost method was developed, and the method was appropriate for quantitative analysis of methanol in self-made wine.

**Key words:** gas chromatography; methanol; self-made wine

中图分类号: TS261.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)22-0054-03

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.22.002

葡萄酒具有美容养颜、延年益寿、预防疾病的功能<sup>[1]</sup>,而自酿葡萄酒不仅保留葡萄酒的风味还经济实惠,所以自酿葡萄酒在老百姓的生活中普遍存在。有传言称自酿葡萄酒中甲醇含量易超标,经常饮用会对身体产生有害作用。甲醇为无色有酒精气味易挥发的液体,易溶于水、醇类、乙醚等。以各类粮食酿造的酒,其中甲醇含量较低;而薯干、谷糠、野生植物等为原料时,酒中的甲醇含量则较高<sup>[2]</sup>,甚至有报道自酿葡萄酒甲醇易超标中毒。甲醇在体内代谢成甲醛和甲酸,对视神经毒性最大,饮用含有过量甲醇的酒可致失明、肝病、甚至死亡<sup>[3]</sup>。因此检测自酿葡萄酒中甲醇的含量,对保证人体健康具有重要意义。为此,本文拟建立一种分析测定方法,旨在测定自酿葡萄酒中甲醇含量。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

正丙醇 分析纯、天津市光复精细化工研究所;无水乙醇 分析纯、天津市永大化学试剂有限公司;甲醇 分析纯、天津市光复精细化工研究所;市售酒样 购自哈尔滨家得乐连锁超市;葡萄 品种为夏黑、购自哈尔滨家得乐连锁超市;酵母 安琪牌;水 去离子水。

Thermo Trace 1300气相色谱仪(GC) Thermo Trace; Agilent 6820气相色谱仪(GC) 美国安捷伦;电子天平 分度值0.1 mg, Mettler-Toledo。

### 1.2 实验方法

1.2.1 红葡萄酒的酿造 葡萄经清洗破碎添加酵

收稿日期: 2015-01-30

作者简介: 郑亚琴(1992-),女,硕士研究生,研究方向:药物分析, E-mail: 13054288759@163.com。

\* 通讯作者: 李倩(1976-),女,博士,副教授,研究方向:体内药物分析及药品质量标准的制定, E-mail: liqian@ems.hrbmu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(31100835);中国博士后面上基金资助(2013M531066);黑龙江省博士后资助LBH-Z11059。

母,敞口浸渍发酵9 d,分离皮渣,将皮渣压榨,将压榨汁勾兑入分离时的自流汁中,密封二次发酵(20 d),然后静置澄清(4 d),分离上清液,澄清葡萄酒放入橡木桶,桶中陈酿(30 d)最后制成红酒<sup>[4]</sup>。

1.2.2 色谱条件 柱温为90 ℃;以氮气为载气,柱流速为1.4 mL/min,进样口温度为150 ℃;火焰离子化检测器(FID)检测,温度为200 ℃,GsBP-InoWAX毛细管柱;分流比为20:1;进样量为0.2 μL。

### 1.2.3 溶液的制备

1.2.3.1 内标溶液的配制 精密称取0.9991 g正丙醇于100 mL容量瓶中,用去离子水溶解并稀释至刻度,作为内标溶液。

1.2.3.2 标准溶液的配制 精密称取1.0018 g甲醇于50 mL容量瓶中,用去离子水溶解并稀释到刻度,作为甲醇标准溶液。

分别量取20.00 mg/mL甲醇溶液0、1、2、3、4、5 mL,量取6份5.0 mL的10.00 mg/mL正丙醇溶液(内标物)分别加到甲醇溶液中,用去离子水稀释,制成内标浓度为0.50 mg/mL,甲醇浓度为0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mg/mL的待测系列标准溶液。

精密称取0.9988 g乙醇于50 mL容量瓶中,用去离子水溶解并稀释到刻度,作为乙醇标准溶液。

1.2.3.3 供试品溶液的配制 分别量取自酿葡萄酒1.00 mL,正丙醇溶液0.5 mL于10 mL容量瓶中,用去离子水稀释至刻度得到自酿样品溶液。分别量取市售葡萄酒5.0 mL,正丙醇溶液0.5 mL于10 mL容量瓶中,用去离子水稀释至刻度,得到市售样品溶液。

### 1.3 数据处理

本实验数据处理方法为SPSS 13.0软件的T检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 线性范围考察

按照“1.2.2”设定的参考条件,将待测标准系列

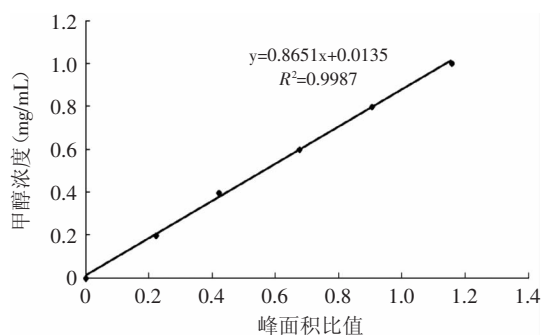


图1 甲醇标准曲线

Fig.1 Standard curve of methanol

溶液分别进样0.2 μL,直接测定,以峰面积比值(x)对甲醇浓度(y)做标准曲线。如图1所示,甲醇浓度在16~1000 μg/mL的浓度范围内线性方程为 $y=0.8651x+0.0135$ , $R^2$ 为0.9987,表明该方法的线性良好。

### 2.2 专属性

将甲醇、正丙醇和乙醇标准溶液混合振摇均匀后,按1.2.2方法进样0.2 μL,直接测定,记录色谱图,结果见图2。甲醇的保留时间为2.223 min;乙醇为2.282 min;正丙醇为2.558 min,基线平稳,三者分离良好。

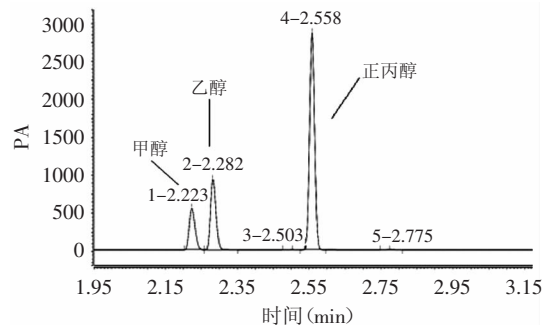


图2 专属性考察色谱分析图

Fig.2 The chromatogram of specificity

### 2.3 精密度

结果见表1。将甲醇浓度为0.2 mg/mL的标准溶液连续进样5次,得到甲醇含量的相对标准偏差(RSD)为1.2%。

表1 精密度实验

Table 1 Precision test

样品	1	2	3	4	5	RSD(%)
甲醇(mg/mL)	0.219	0.221	0.219	0.224	0.217	1.2

### 2.4 回收率

在已知浓度的样品溶液中加入已知量的甲醇标准品,测定其加标回收率。根据线性曲线,选择0.50 mg/mL为中心浓度,按其80%、100%、120%的比例分别配制9份溶液(每种浓度各3份),分别与样品溶液等体积混合,按照气相条件进样0.2 μL,记录色谱图,计算回收率,结果见表2。根据表2结果可知回收率在90.03%~94.00%范围内,表明准确度良好,符合杂质定量检测的要求。

### 2.5 检测限

当信噪比(S/N)为3时,测得甲醇含量为0.004 mg/

表2 回收率实验

Table 2 Recovery test

	浓度1(80%)			浓度2(100%)			浓度3(120%)		
	称样量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	称样量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	称样量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
样品	2.00	1.81	90.07	2.50	2.30	92.00	3.01	2.74	91.03
	2.00	1.88	94.00	2.50	2.26	90.40	3.01	2.71	90.03
	2.00	1.88	94.00	2.50	2.26	90.40	3.01	2.71	90.03
平均值	2.00	1.86	93.00	2.50	2.27	90.80	3.01	2.72	90.37

mL, 故检测限为0.004 mg/mL。

## 2.6 定量限

当信噪比(S/N)为10时, 测得甲醇含量为0.016 mg/mL, 故定量限为0.016 mg/mL。

## 2.7 样品测定

将配制好的样品按“1.2.1”设定的参考条件分别进样0.2  $\mu$ L, 得到样品色谱图, 见图3; 自酿样品溶液和市售样品溶液分别连续进样5针, 根据标准曲线计算样品中甲醇的含量, 最后取平均值, 见表3。由结果可知, 市售葡萄酒样品中甲醇含量符合国家标准(<0.4 mg/mL<sup>[9]</sup>), 而自酿葡萄酒中甲醇含量普遍高于市售葡萄酒, 个别甲醇含量严重超出国家标准范围。

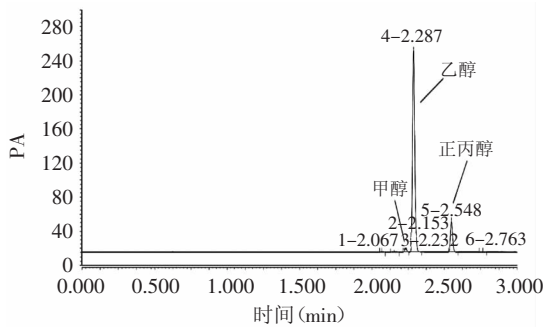


图3 葡萄酒样品色谱图

Fig.3 The chromatogram of wine

表3 葡萄酒中甲醇含量测定结果

Table 3 Methanol in wine

样品	自酿1	自酿2	自酿3	市售4
甲醇含量(mg/mL)	1.373	0.372	0.367	0.288

## 3 结论与讨论

本文以正丙醇为内标, 采用GC/FID法测定自酿葡萄酒中甲醇的含量。外标法是现在测定酒中甲醇、杂醇油的标准方法<sup>[9]</sup>, 与外标法相比, 内标法具有重现性好, 准确度高, 可在一定程度上消除操作条件等的变化所引起的误差<sup>[7-10]</sup>。正丙醇作为内标物, 其结构与甲醇相似, 化学性质稳定, 不与甲醇发生反应, 与甲醇的分离度大于1.5, 是理想的内标物质。有文献报道采用顶空进样效果较好<sup>[11-12]</sup>, 但其设备要求苛刻, 价格昂贵, 影响因素较多; 另有文献报道可采用填充柱GC法, 因酒中成分复杂, 高沸点的成分流不出柱子易污染气化室和色谱柱<sup>[13]</sup>, 所以不适合酒样的检测。本方法采用直接进样, 成本低, 操作简便, 用内标法进行定量, 准确度高, 重复性好, 适合于酒样的测定。同时可以满足快速、准确地分析葡萄酒中甲醇含量的需求。

在本次测定的过程中, 发现不同的制备过程中葡萄酒的甲醇含量也不同。为此推断因葡萄的产地, 葡萄的选择、盛装器皿、储存时间不同以及制备方法的不同都会影响自酿葡萄酒中甲醇的含量。自酿葡

萄酒虽经济实惠, 但在生产流程中存在难以人为控制的因素, 而造成其甲醇含量难以控制, 进而带来相应危害。综上所述, 从健康角度出发, 应慎重制造和饮用自酿葡萄酒。

根据以上的各项实验结果, 各组分离度均大于1.5, 相对标准偏差为1.2%, 小于10%, 加标回收率在90.03%~94.00%之间, 且定量限小于甲醇的国标(400 mg/mL), 该方法符合葡萄酒、果酒通用分析方法(GB/T15038-2006), 同时也满足气相色谱方法验证的各项要求。本文建立了一种快速简便的检测酒中甲醇含量的气相色谱法, 即以正丙醇为内标, 采用GC/FID和GsBP-InoWAX毛细管柱, 对样品直接进样进行分析。该方法的优点是操作简单, 样品不需要任何处理, 而且进样量小, 分析周期短, 3 min即可, 大大缩短了检测时间, 样品对毛细管色谱柱基本无污染, 准确度高, 灵敏性好, 适合成分复杂的样品的检测, 是一种高效、低成本、简捷的检测葡萄酒中甲醇含量的方法。

## 参考文献

- [1] Fehér J, Lengyel G, Lugasi A. The cultural history of wine-theoretical background to wine therapy[J]. Central European Journal of Medicine, 2007, 2(4): 379-391.
- [2] GB/T 5009 48-2003, 蒸馏酒与配制酒卫生标准的分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [3] Kruse J A. Methanol poisoning[J]. Intensive Care Medicine, 1992, 18(7): 391-397.
- [4] W Hartmeier, M Reiss. Production of Beer and Wine[J]. Industrial Applications, 2002(10): 49-65.
- [5] GB/T 15037-2006, 葡萄酒[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [6] 王斌, 冯锡凯, 马立明. 气相色谱内标(环己烷)法测定蒸馏酒中甲醇、杂醇油含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(7): 802-803.
- [7] 郝红霞, 杜然, 陈新明, 等. 气相色谱法同时测定血清中甲醇、乙醇、正丙醇[J]. 刑事技术, 2012(6): 8-12.
- [8] Caruso R, Gambino G L, Scordino M, et al. Gas chromatographic quantitative analysis of methanol in wine: operative conditions, optimization and calibration model choice[J]. Natural product communications, 2011, 6(12): 1939-1943.
- [9] 曾游, 丁怡. 葡萄酒中甲醇的气相色谱测定方法的条件优化[J]. 现代食品科技, 2011, 27(8): 1029-1032.
- [10] 白云霞, 朱旭东, 韩笑. 气相色谱定量分析中内标法、外标法的比较及选择[C]. 北京: 中国粮油学会, 2009: 283-285.
- [11] 叶建晨, 杨佳佩. 顶空毛细管气相色谱法测定葡萄酒中甲醇残留量[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(6): 1359.
- [12] Liu H H, Li Y Q, Sun C J. Determination of methanol and fusel oils in alcohol beverages using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography[J]. Chinese journal of chromatography, 2002, 20(1): 90-93.
- [13] 李永生, 齐娇娜, 高秀峰. 酒中甲醇测定方法的研究进展[J]. 酿酒科技, 2006(1): 84-89.