

## 实验技术与方法

## 光谱重叠的高级醇混合物的同时定量分析

加列西·马那甫<sup>1</sup>, 德娜·吐热汗<sup>2</sup>, 高珍珍<sup>3</sup>, 景伟文<sup>1</sup>

(1. 新疆农业大学化学工程学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业大学数理学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 3. 新疆农业大学草业与环境科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

**摘要:**目的 对同时测定光谱重叠严重的异丁醇、异戊醇和正丙醇3组分体系的方法进行研究。方法 根据醇类与对二甲氨基苯甲醛反应的显色特征选择最佳试验条件, 采用偏最小二乘法(PLS)对光谱重叠严重的异丁醇、异戊醇和正丙醇3组分进行分析。结果 对模拟混合试样, 异丁醇、异戊醇、正丙醇回收率分别为99.8%、99.6%和99.9%, 相对预报误差(RPEs)分别为0.88%、1.81%和0.90%; 回收率和RPEs在允许范围内。结论 使用偏最小二乘法测定异丁醇、异戊醇和正丙醇3组分, 测量体系稳定、结果可靠。

**关键词:** 偏最小二乘法; 光度法; 啤酒; 高级醇

中图分类号: TS201.2; TS207.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2013)04-0328-03

## Simultaneous quantitative analysis of higher alcohol mixture with overlapping spectra

Jialiexi · manafu, Dena · turehan, GAO Zhen-zhen, JING Wei-wen

(College of Chemical Engineering Xinjiang Agricultural University, Xinjiang Urumqi 830052, China)

**Abstract: Objective** To simultaneously determine the three-component system of isobutanol, isoamyl alcohol and n-propanol with overlapping spectra. **Methods** Experimental conditions were optimized according to the characteristics of color reaction of alcohols with paradimethylaminobenzaldehyde, and partial least squares (PLS) was used to simultaneously determine isobutanol, isoamyl alcohol and n-propanol with serious spectrum overlapping. **Results** The recoveries of simulative mixed samples were 99.8%, 99.6% and 99.9% with RPEs 0.88%, 1.81% and 0.90%, respectively. Recoveries and RPEs were within the allowable range. **Conclusion** Partial least squares method for the determination of three-component system of isobutanol, isoamyl alcohol and n-propanol was stable and reliable.

**Key words:** Partial least squares method; spectrophotometry; beer; higher alcohols

啤酒发酵是复杂的生物化学反应过程, 在啤酒酵母所含酶系的作用下, 主要代谢产物是乙醇、二氧化碳和水, 发酵副产物有高级醇类、醛类、双乙酰、有机酸等, 这些副产物与酒精、二氧化碳共同组成啤酒的酒体, 并形成啤酒特有的风味。啤酒中的高级醇有正丙醇、异丁醇、异戊醇等, 含量一般为70~100 mg/L, 适当的高级醇能赋予酒体丰满与醇厚的口感, 过量的高级醇是酒体主要异杂味的来源。现在多数厂家生产的啤酒都有高级醇含量过高的问题, 改善工艺降低高级醇含量, 已成为啤酒业和消费者共同关注的问题<sup>[1-4]</sup>。

目前啤酒中高级醇的检测方法主要有色谱法

和光度法<sup>[5-7]</sup>。虽然色谱法有效的多组分分析方法, 但使用的仪器、试剂昂贵且样品前处理复杂; 光度法快速、操作简单, 但在组分间吸收光谱重叠时, 无法直接进行定量分析。化学计量学<sup>[8-11]</sup>的应用能够从大量复杂的数据中提取有用信息, 消除部分背景干扰, 解析重叠光谱, 从而实现多组分的同时测定。本文建立的偏最小二乘法(PLS)对光谱重叠严重的异丁醇、异戊醇和正丙醇的模拟混合样品和啤酒样品进行同时测定, 得到单一成分的含量。使用仪器简便、快速、成本低, 对食品多组分的同时测定具有实际意义。

## 1 材料与方法

## 1.1 仪器与试剂

TU-1810型紫外可见分光光度计、AL204-IC电子分析天平、WC/09-05恒温水浴槽。

标准储备溶液: 精取异丁醇( $\rho = 0.8020 \text{ g/ml}$ )、异戊醇( $\rho = 0.8092 \text{ g/ml}$ )和正丙醇( $\rho = 0.80375 \text{ g/ml}$ )各0.1 ml, 分别置于100.0 ml容量瓶中, 加水稀释

收稿日期: 2013-05-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41263004)

作者简介: 加列西·马那甫 男 副教授 研究方向为实用药物分析

E-mail: jialiexi@sina.cn

通讯作者: 景伟文 女 副教授 研究方向为环境化学

E-mail: 479218061@qq.com

至刻度,配成 16.04、32.37 和 32.15  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的溶液;对二甲氨基苯甲醛溶液:称取 0.5 g 对二甲氨基苯甲醛,置于 100.0 ml 容量瓶中,加硫酸溶解并用硫酸稀释至刻度,现配现用。

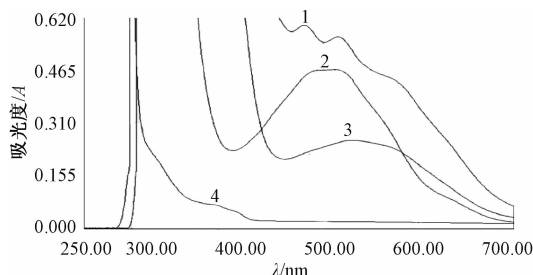
## 1.2 试验方法

精取 0.5 ml 异丁醇、1.0 ml 异戊醇和 1.0 ml 正丙醇标准储备液,分别置于 25 ml 棕色容量瓶中,并向各容量瓶中加入 5 ml 对二甲氨基苯甲醛溶液,置于沸水浴加热 15 min 后立即放入冰水浴冷却,加水定容至刻度,配制成各单组分溶液或 3 组分的混合溶液(按表 2 组合配制),待测。以试剂空白为参比,在 250 ~ 700 nm 波长范围,进行光谱扫描,得到各组分的吸收光谱,并在此波长范围内,每隔 1 nm 读取其吸光度值。

## 2 结果与分析

### 2.1 吸收光谱

按 1.2 试验方法,测得异丁醇、异戊醇和正丙醇的吸收光谱如图 1 所示,它们分别在 531、480 和 512 nm 波长处有最大吸收,且吸收光谱重叠严重,在进行测定时,3 组分彼此相互干扰,用经典的光度法难以直接进行单一组分的定量。



注:1. 异戊醇;2. 正丙醇;3. 异丁醇;4. 显色剂。

图 1 样品吸收光谱图

Figure 1 Absorption spectra

## 2.2 反应条件的优化

### 2.2.1 显色剂的用量

按 1.2 试验方法,对显色剂(对二甲氨基苯甲醛溶液)用量进行了考察,试验结果表明,吸光度随对二甲氨基苯甲醛溶液用量增加而增大,当对二甲氨基苯甲醛溶液用量增至 5 ml 时,吸光度值最大且稳定。试验选择对二甲氨基苯甲醛溶液用量为 5 ml。

### 2.2.2 显色时间

按 1.2 试验方法,加入对二甲氨基苯甲醛溶液后,置于沸水浴,分别在 5、10、15、20 和 25 min 测定吸光度值,试验结果表明,在 15 min 时吸光度值最大且稳定,本试验选择 15 min 作为显色时间。

### 2.2.3 显色反应的稳定性

按 1.2 试验方法,加入对二甲氨基苯甲醛溶液后,沸水浴加热 15 min,冰水冷却至室温,每隔 5 min 测定吸光度值。试验结果表明,在 15 ~ 20 min 之内,溶液的吸光度值最大且稳定,故选择显色 15 min 后进行测定。

### 2.2.4 线性范围

试验结果表明,异丁醇、异戊醇、正丙醇分别在 12 ~ 50、11 ~ 46、18 ~ 72  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的浓度范围遵守朗-比耳定律,具有良好的线性关系。

## 2.3 最佳计算测定条件的确定

### 2.3.1 吸光度加和性的考察

按 1.2 试验方法配制 5 份不同浓度的异丁醇、异戊醇和正丙醇的模拟混合溶液和相应浓度的各纯标准溶液,在选定的波长处测定吸光度,比较混合体系吸光度值  $A$  与 3 组分纯溶液的吸光度加合值  $A_0$ 。试验结果表明,体系的  $|A - A_0|/A_0$  均小于 0.1,体系吸光度的加和性较好。

### 2.3.2 校正模型的建立与检验

用已知不同浓度的异丁醇、异戊醇和正丙醇模拟混合溶液作为校正组,测定它们的吸光度并组成吸光度矩阵,利用偏最小二乘法建立吸光度与各测量组成的数学模型,利用该模型对预报组进行预报,检验模型的预报能力。校正模型对预报组浓度的预报能力可以用相对预报误差来表示,相对预报误差越小,预报能力越强,浓度预报越准确。

### 2.3.3 波长范围和间隔的确定

波长范围及间隔的选择是建立模型和进行计算的关键步骤。为了检查波长范围的选择对计算结果的影响,根据吸收曲线,采用相同的波长间隔,不同的波长选择范围,对同一套模拟混合样品进行偏最小二乘法计算,计算结果可知,对于此类混合体系,波长范围的选择对计算结果产生严重的影响,选择波长 460 ~ 560 nm 为最佳。在保证准确度前提下,选择 2 nm 的间隔为宜。

### 2.3.4 模拟混合样品的测定

按正交设计表  $L_9(3^3)$  配制 9 组不同浓度的 3 组分模拟混合样品作校正组(表 1),建立校正模型,测定不同波长处的吸光度。对另一 9 组不同浓度的 3 组分模拟混合样品预报组(表 2)进行测定,用偏最小二乘法进行数据处理,相对预报误差(RPEs)、回收率列于表 2 中。

## 2.4 样品测定

将瓶装啤酒置于冰箱冷却至 5  $^{\circ}\text{C}$ ,除去泡沫,吸取 100 ml 于 500 ml 平底烧瓶中,加几粒沸石,水浴蒸馏,用 100.0 ml 容量瓶于冰水中吸收,当吸收瓶

表1 模拟混合样品校正组质量浓度组成

Table 1 Composition of quality concentration of standard mixture

样品序号	质量浓度/( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )		
	异丁醇	异戊醇	正丙醇
1	22.68	19.44	32.14
2	22.68	16.2	28.926
3	22.68	12.96	25.712
4	19.44	19.44	28.926
5	19.44	16.2	25.712
6	19.44	12.96	32.14
7	25.92	19.44	25.712
8	25.92	16.2	25.712
9	25.92	12.96	28.926

表2 模拟混合样品预报组质量浓度组成、PLS 预测值及误差分析

Table 2 PLS prediction value and error analysis of composition of quality concentration of standard mixture

样品序号	预报组质量浓度/( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )			PLS 预测值/( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )		
	异丁醇	异戊醇	正丙醇	异丁醇	异戊醇	正丙醇
1	25.00	16.50	28.50	25.06	16.71	28.45
2	25.00	19.50	21.90	25.31	19.15	21.74
3	25.00	22.35	32.15	25.27	22.06	32.52
4	21.50	16.50	21.90	21.28	16.69	21.74
5	21.50	19.50	32.15	21.49	19.31	31.84
6	21.50	22.35	28.50	21.35	22.11	28.34
7	20.00	16.50	32.15	19.90	16.76	32.61
8	20.00	19.50	28.50	19.75	19.12	28.65
9	20.00	22.35	21.90	19.84	22.20	21.73
平均误差/%				0.82	1.30	0.89
RPEs/%				0.88	1.81	0.90
回收率/%				99.80	99.60	99.90

溶液至 80 ml 时再向平底烧瓶加 20 ml 水,继续蒸馏,待吸收瓶溶液至 95 ml 时停止蒸馏,取下吸收瓶,20 ℃ 保持 20 min,加水定容至刻度,稳定 15 min。精取 5.0 ml 蒸馏样品于 25.00 ml 棕色容量瓶中,于冰水中沿管壁缓缓加入 5 ml 对二甲氨基苯甲醛硫酸溶液,沸水浴煮沸 15 min,冷却至室温,以试剂空白作参比,在 460 ~ 560 nm 波长范围,间隔 1 nm,测定吸光度值。利用 Matalab 编程计算啤酒中 3 种高级醇的平均含量。结果见表 3。

### 3 结论

高级醇与对二甲氨基苯甲醛反应生成的紫红

表3 啤酒样品中 3 种高级醇含量( $n=3$ ,mg/L)

Table 3 Determination results of samples

样品	异丁醇	异戊醇	正丙醇
乌苏啤酒	17.23	49.24	10.32
新疆啤酒	15.03	61.20	9.50
燕京啤酒	10.27	59.64	8.92
青岛啤酒	11.90	65.42	13.26
雪花啤酒	13.61	40.27	9.73
百威啤酒	12.60	63.26	11.22
嘉士伯啤酒	20.16	37.10	8.16
蓝带啤酒	12.60	70.26	10.07

色化合物在可见区均有吸收,但吸收光谱重叠严重,无法使用光度法同时测定单组分的含量。采用偏最小二乘法结合光度法能较好地解析重叠光谱,并能同时测定啤酒中异戊醇、异丁醇和正丙醇的含量。该方法所用仪器普及,且有效减少了测定步骤和成本,对于食品醇类多组分的同时测定有一定的实用价值。

### 参考文献

- [1] 郭营新,周世水. 啤酒与健康[M]. 广州:华南理工大学出版社,2010:135-140.
- [2] 方维明,汪志君,高庆,等. 低含量高级醇啤酒酵母菌株的选育[J]. 南京农业大学学报,2005,28(1):61-62.
- [3] 杜福强,任金艳,方雨辰. 啤酒中高级醇的影响因素及降低含量的措施[J]. 食品与药品,2007,9(11):46-47.
- [4] 陈长毅. 影响啤酒中高级醇含量因素及其控制措施的探讨[J]. 现代食品科技,2010,26(12):1370-1371.
- [5] 甄会英,王颖,李长文,等. 分光光度法测定苹果酒中的高级醇[J]. 酿酒科技,2005,131(5):104-105.
- [6] 吕英涛,康从民,王丽红,等. 啤酒中三种高级醇 HPLC 分析方法的开发[J]. 食品工业科技,2008,29(9):266-267.
- [7] 李春红,云霞,杨红. 气相色谱内外标法分析啤酒中高级醇含量的比较[J]. 中国酿造,2007,176(11):61-63.
- [8] 潘荣荣,曲刚莲,马果花. 化学计量学在分析化学中的应用[J]. 化学分析计量,2007,16(2):76-77.
- [9] 鲁秀恒. 化学计量学在食品分析中的应用[J]. 长春大学学报,2006,16(3):58-60.
- [10] 倪永年,黄春芳. 化学计量学在食品分析中的应用与进展[J]. 食品科学,2003,24(2):155-156.
- [11] 杜一平,潘铁英,张玉兰. 化学计量学应用[M]. 北京:化学工业出版社,2008:161-163.

## · 公告 ·

# 关于发布食品安全国家标准《食品生产通用卫生规范》(GB 14881—2013)的公告

2013 年第 8 号

根据《中华人民共和国食品安全法》和《食品安全国家标准管理办法》规定,经食品安全国家标准审评委员会审查通过,现发布食品安全国家标准《食品生产通用卫生规范》(GB 14881—2013)。

特此公告。

附件:食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范.pdf(略)

国家卫生和计划生育委员会  
二〇一三年五月二十四日