

T/CBJ8101-2019 《谷物酿造料酒》

第 1 号修改单

原标准：

6.5 β -苯乙醇（高效液相色谱法）

6.5.1 原理

经处理后的料酒样品，注入到高效液相色谱柱里，根据色谱柱对不同组分的吸附能力差异，经流动相冲洗，由于不同组分在柱内形成迁移速度的差异而得到分离。分离后的组分先后流出色谱柱，经紫外检测器检测，依据色谱图中各组分保留值与标准样品作对照定性，根据峰面积，按外标法定量。

6.5.2 试剂

除另有说明外，其余所有试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 所规定的一级水。

6.5.2.1 β -苯乙醇标准物质：纯度不小于 99%。

6.5.2.2 甲醇：色谱纯。

6.5.2.3 三氯乙酸。

6.5.2.4 乙醇。

6.5.3 仪器

6.5.3.1 高效液相色谱仪，配有紫外检测器。

6.5.3.2 分析天平（精度 0.1 mg）。

6.5.3.3 涡旋混匀器。

6.5.3.4 微孔滤膜：0.22 μm 。

6.5.4 分析步骤

6.5.4.1 标准溶液的制备：准确称取 β -苯乙醇标准品，用含有 10%vol 乙醇的水溶液配制成浓度为 10 g/L 的标准品母液，准确吸取母液进行稀释，使标准液中 β -苯乙醇浓度分别为：10mg/L、25 mg/L、40 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L。

6.5.4.2 样品的处理：取 2 mL 样品于离心机中，12000 r/min 离心 2 min，取 1 mL 上清液与 1 mL 的 10%三氯乙酸溶液混合，涡旋混匀 1 min，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下静置 4 h，12000 r/min 离心 10 min，取上清液过 0.22 μm 滤膜后可直接进行高效液相色谱的测定。根据标准曲线的回归方程计算样品中的 β -苯乙醇的含量。

6.5.5 参考色谱条件

6.5.5.1 色谱柱：反相 C18 色谱柱或等效色谱柱。

6.5.5.2 流动相：超纯水和甲醇 1:1 混合后等梯度洗脱。

6.5.5.3 流速：1.0 mL/min。

6.5.5.4 进样量：5 μL/次~10 μL/次。

6.5.5.5 检测波长：210 nm。

6.5.5.6 柱温：30 ℃。

6.5.6 定性

根据 β-苯乙醇标准样品的保留时间，与待测样品中的组分进行对比定性。

6.5.7 外标法定量

以 β-苯乙醇标准溶液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线；将处理后的样品注入到色谱柱里，测定样品中 β-苯乙醇的峰面积，由标准曲线计算料酒中的 β-苯乙醇浓度。

6.5.8 结果计算

6.5.8.1 样品中 β-苯乙醇的浓度，以每升试样中含有 β-苯乙醇的毫克数 (mg/L) 表示，按式 (1) 计算：

$$X_i = c_i \times F \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i —样品中 β-苯乙醇的浓度，单位为毫克每升 (mg/L)；

c_i —从标准曲线中求得的 β-苯乙醇的浓度，单位为毫克每升 (mg/L)；

F —样品稀释倍数。

6.5.8.2 平行测定结果用算术平均值表示，保留至小数点后一位。

6.5.9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立的测定结果的绝对值差不超过算术平均值的 5%。

修改为：

6.8 β-苯乙醇（气相色谱法）

6.8.1 原理

试样被气化后，随同载气进入色谱柱。利用被测各组分在气、液两相中具有不同的分配系数，在柱内形成迁移速度的差异而得到分离。分离后的组分先后流出色谱柱，进入氢火焰检测器中被检测，依据色谱图各组分的保留值与标样作对照定性；利用峰面积，按内标法定量。

6.8.2 试剂

6.8.2.1 乙醇溶液（15%vol）：吸取 15mL 乙醇（色谱纯），加水稀释至 100mL，摇匀。

6.8.2.2 β -苯乙醇标准溶液(2%vol):吸取 β -苯乙醇(色谱纯)2mL,用乙醇溶液(6.8.2.1)定容至100mL。

6.8.2.3 2-乙基正丁酸内标溶液(2%vol):吸取 2-乙基正丁酸(色谱纯)2mL,用乙醇溶液(6.8.2.1)定容至100mL。

6.8.3 仪器

6.8.3.1 气相色谱仪:配有氢火焰离子化检测器(FID)。

6.8.3.2 微量注射器:2 μ L。

6.8.3.3 毛细管色谱柱:PEG 20M,柱长 25m~30m,内径0.32mm,或同等分析效果的其他色谱柱。

6.8.4 色谱条件

载气:高纯氮。

汽化室温度:230 $^{\circ}$ C。

检测器温度:250 $^{\circ}$ C。

柱温(PEG20M毛细管色谱柱):在50 $^{\circ}$ C恒温2min后,以5 $^{\circ}$ C/min的升温速度至200 $^{\circ}$ C,继续恒温10 min。

载气、氢气、空气的流速:随仪器而异,应通过试验选择最佳操作流速,使 β -苯乙醇、内标峰与酒样中其他组分峰获得完全分离。

6.8.5 标样*f*值的测定

吸取 β -苯乙醇标准溶液(6.8.2.2)1mL,移入100mL容量瓶中,加入的内标溶液(6.8.2.3)1mL,用乙醇溶液(6.8.2.1)定容。此溶液中 β -苯乙醇和内标的浓度均为0.02%vol。

开启仪器,待色谱仪基线稳定后,用微量注射器进样(进样量随仪器的灵敏度而定)。记录 β -苯乙醇峰和内标的保留时间及其峰面积。

β -苯乙醇的相对校正因子*f*值按式(11)计算:

$$f = \frac{A_1}{A_2} \times \frac{d_2}{d_1} \dots\dots\dots (11)$$

式中:

f —— β -苯乙醇的相对校正因子;

A_1 —— 测定标样*f*值时,内标的峰面积;

A_2 —— 测定标样*f*值时, β -苯乙醇的峰面积;

d_2 —— β -苯乙醇的相对密度;

d_1 —— 内标物的相对密度。

6.8.6 试样的测定

取试样约 8mL 于 10mL 容量瓶中,加入内标溶液(6.8.2.3)0.1mL,用试样定容。混匀后,在与测定 f 值相同的条件下进样。依据保留时间确定 β -苯乙醇和内标色谱峰的位置,并测定其面积,计算出试样中 β -苯乙醇的含量。

6.8.7 计算

试样中 β -苯乙醇的含量按式(12)计算:

$$X=f \times \frac{A_3}{A_4} \times c \quad \dots\dots\dots(12)$$

式中:

X ——试样中 β -苯乙醇的含量,单位为毫克每升(mg/L);

A_3 ——试样中 β -苯乙醇的峰面积;

A_4 ——添加于试样中内标的峰面积;

c ——试样中添加内标的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

所得结果表示至一位小数。

6.8.8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的5%。

