

ĐÁNH GIÁ PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ETHANOL, METHANOL VÀ ACETALDEHYDE BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH QUANG PHỔ HẤP THU PHÂN TỬ (UV-VIS) VÀ PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH SẮC KÝ KHÍ GHÉP KHỐI PHỔ (GC-MS)

● NGUYỄN QUỐC THẮNG - PHẠM THỊ MINH TRANG

TÓM TẮT:

Nghiên cứu này tập trung vào xác nhận giá trị sử dụng và so sánh của quy trình phân tích ethanol, methanol và acetaldehyde trong rượu, bia theo phương pháp phân tích quang phổ hấp thu nguyên tử (UV-Vis) và phương pháp phân tích sắc ký khí ghép đầu dò khối phổ (GC-MS). Từ đó, phân tích hàm lượng ethanol, methanol và acetaldehyde trong các loại rượu, bia. Kết quả nghiên cứu này, bước đầu ứng dụng làm cơ sở đánh giá nguồn gốc rượu, bia dựa trên kết quả phân tích hàm lượng ethanol, methanol và acetaldehyde.

Từ khóa: ethanol, methanol, acetaldehyde, GC-MS, rượu, bia.

1. Đặt vấn đề

Rượu, bia là loại đồ uống có cồn quen thuộc trong thị trường thức uống ở Việt Nam. Đồ uống có cồn là một phần quan trọng trong cuộc sống hàng ngày, mang lại lợi ích cho cả thể chất và tâm hồn với mức tiêu thụ vừa phải trong cơ thể. Giai đoạn quan trọng trong sản xuất tất cả đồ uống có cồn là quá trình lên men, đặc biệt là lên men rượu, theo đó đường được chuyển hóa thành ethanol và nhiều sản phẩm phụ khác. Hiện nay, có nhiều loại men khác nhau thúc đẩy chuyển đổi đường thành ethanol, vì vậy có thể tạo ra nhiều sản phẩm đồ uống với hương vị đặc trưng, do đó góp phần tạo nên sự đa dạng phong phú cho đồ uống có cồn [1]. Về cơ bản,

đồ uống có cồn được chia thành 2 loại, đó là không qua chưng cất và qua chưng cất.

Rượu trắng chưng cất là loại đồ uống có cồn được chưng cất từ dịch lên men có nguồn gốc tinh bột hoặc các loại đường [2]. Trong đó, rượu tinh cất là rượu được chưng cất liên tục đến độ cồn bằng hoặc trên 95% và được tinh chế lại, nhằm loại bỏ mùi vị và màu sắc của rượu sau khi chưng cất. Rượu tinh cất được dùng để pha chế các loại rượu khác thấp độ cồn hơn như vodka, GNS,... Rượu tinh cất được chưng cất từ sản phẩm lên men của khoai tây, ngũ cốc rỉ mật,... và được xử lý sau chưng cất bằng than hoạt tính. Whisky được chưng cất từ dịch ngâm lên men chủ yếu từ các loại ngũ cốc như ngô, lúa

mạch, lúa mạch đen, lúa mì. Brandy được chưng cất từ các loại trái cây lên men (thường là nho). Rum được chưng cất từ dịch lên men của nước mía, syro mía, mật mía hay các phụ phẩm của mía. Tequila là loại rượu có nguồn gốc từ Mexico, được chưng cất từ dịch ngâm lên men cây thùa xanh trồng ở vùng Tequila. Mescal là loại rượu có nguồn gốc từ Mexico, được chưng cất từ dịch ngâm lên men cây maguey (*Agave americana* L.) [3, 4].

Đồ uống có cồn không qua chưng cất có thể kể đến là bia, rượu vang, rượu trái cây,... Bia là đồ uống được tạo ra bằng quá trình lên men đường có nguồn gốc từ ngũ cốc đã xay nhuyễn và các hương liệu như anh đào, cam quýt, rau mùi,... Rượu vang là một trong những đồ uống phổ biến và lâu đời nhất trên thế giới. Rượu vang là sản phẩm nước quả nho lên men. Hiện nay, các loại rượu vang phổ biến được ưa chuộng sử dụng nhiều nhất là rượu vang trắng, rượu vang đỏ, rượu vang hồng và rượu vang sủi bọt [3, 4].

Chính vì sự đa dạng trong quy trình sản xuất đồ uống có cồn, do đó, ngoài thành phần chính là ethanol, còn có hương liệu và những sản phẩm phụ khác không có lợi cho sức khỏe. Do đó, việc kiểm tra hàm lượng các ethanol và các sản phẩm phụ độc hại như methanol, acetaldehyde có trong đồ uống có cồn là quan trọng và cần thiết để đảm bảo sức khỏe người tiêu dùng. Phương pháp cổ điển xác định hàm lượng ethanol, methanol, acetaldehyde [5, 6] là thực hiện phản ứng tạo hợp chất màu sau đó so màu trên thiết bị UV-Vis. Hiện nay, để nâng cao độ nhạy, người ta sử dụng phương pháp sắc ký khí [7, 8] hoặc phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân [9]. Các phương pháp phân tích này đều gặp cản trở khi phân tích methanol, acetaldehyde trong mẫu có hàm lượng quá cao của ethanol. Do đó, nhiệm vụ của nghiên cứu này là xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích hàm lượng ethanol, methanol, acetaldehyde để đạt kết quả phân tích chính xác nhất. Thông qua kết quả phân tích, bước đầu có thể nhận định nguồn gốc của rượu, bia.

2. Phương pháp thực nghiệm

2.1. Hóa chất, thiết bị

- Chất chuẩn ethanol, methanol, acetaldehyde, chất nội chuẩn n-butanol tinh khiết phân tích của Hãng Merck.

- Dung môi acetonitrile, potassium permanganate, sodium chromate, acid sulfuric, acid chromotropic, thuốc thử Fucsin của hãng Merck.

- Hệ thống thiết bị sắc ký khí ghép nối khối phổ: GC-MS Thermo Scientific ISQ 72008051.

- Thiết bị quang phổ UV-Vis: Agilent Cary mode 300.

2.2. Lấy mẫu

Mẫu được lấy ngẫu nhiên theo từng lô sản xuất theo phương pháp lấy mẫu phù hợp cho các loại bia, rượu. Các loại mẫu được chọn như bia, rượu được bán trên thị trường mang thương hiệu của các nhà sản xuất lớn cũng như những sản phẩm không có thương hiệu. Sau khi lấy, mẫu được bảo quản và chuyển về phòng thí nghiệm để phân tích.

2.3. Phương pháp phân tích hàm lượng ethanol, methanol, acetaldehyde

2.3.1. Phương pháp phân tích quang phổ UV-Vis

Phương pháp xác định acetaldehyde: Lấy 10 mL dung dịch chuẩn acetaldehyde với nồng độ 0 - 100 mg/L pha trong dung dịch ethanol 45%, cho vào bình phản ứng đặt trong chậu nước ở nhiệt độ $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, thêm vào mỗi ống 2 mL thuốc thử fucsin sulfite, lắc đều và giữ trong chậu nước. Sau thời gian 20 phút, dung dịch thu được đem đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 570 nm [5]. Nồng độ acetaldehyde trong mẫu được tính từ đường chuẩn tương quan giữa độ hấp thụ A và nồng độ acetaldehyde.

Phương pháp xác định methanol: Lấy 1 mL dung dịch chuẩn methanol có nồng độ 0 - 100 mg/L pha trong dung dịch ethanol 5% vào từng bình phản ứng, thêm tiếp vào mỗi bình 0,5 mL KMnO_4 30 g/L, sau 15 phút thêm từ từ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 100 g/L đến khi dung dịch chuyển sang trong suốt không màu, thêm 10 mL dung dịch thuốc thử acid chromotropic 0,1% vào mỗi ống, gia nhiệt trong bồn cách thủy ở $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Sau thời gian 20 phút, làm nguội các dung dịch phản ứng về nhiệt độ phòng, đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 570 nm [7]. Nồng độ methanol trong mẫu được tính từ đường chuẩn tương quan giữa độ hấp thụ A và nồng độ methanol.

Phương pháp xác định ethanol: Lấy 0,5 mL dung dịch chuẩn ethanol nồng độ 0 - 50 g/L vào từng bình phản ứng, thêm tiếp 0,5 mL thuốc thử dicromate (có chứa 10% w/v $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ trong dung dịch 5 M H_2SO_4), lắc trộn vortex trong 1 phút. Hỗn hợp được

để yên 10 phút ở nhiệt độ phòng để cho quá trình oxy hóa diễn ra làm màu dung dịch chuyển từ vàng cam thành màu xanh lá. Thêm 9 mL nước cất deion để pha loãng hỗn hợp và tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 595 nm [10]. Nồng độ ethanol trong mẫu được tính từ đường chuẩn tương quan giữa độ hấp thụ A và nồng độ ethanol.

2.3.2. Phương pháp phân tích sắc ký khí ghép đầu dò khối phổ (Bảng 1)

Xử lý mẫu bia: Lấy khoảng 200 mL bia cho vào bình cầu 1000 mL, sau đó lắc 40 phút, ở nhiệt độ 30°C cho đến khi ngừng tách khí. Lọc dịch bia qua giấy lọc khô trên phễu lọc có nắp thủy tinh đậy kín (bỏ phần dịch lọc đầu khoảng 20 mL). Hút 50 µL lần lượt dịch lọc mẫu bia và 50 µL nội chuẩn vào vial thủy tinh 10 mL, thêm 900 µL nước cất deion. Hỗn hợp được vortex trong thời gian 1 phút và tiến hành phân tích trực tiếp bằng hệ thống heaspace GC-MS.

Xử lý mẫu rượu: Mẫu rượu được lắc trộn đều sau đó lọc rượu qua giấy lọc khô trên phễu lọc có nắp thủy tinh đậy kín (bỏ phần dịch lọc đầu khoảng 20 mL). Hút 10 µL lần lượt dịch lọc mẫu rượu và 50 µL nội chuẩn vào vial thủy tinh 10 mL, thêm 940 µL nước cất deion. Hỗn hợp được vortex trong thời gian

Bảng 1. Điều kiện thiết bị GC-MS phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde

Tên thiết bị	Hệ thống GC-MS Thermo Scientific ISQ 72008051
Cột sắc ký	TG-WAXMS 30 m 0,25 mm 0,5 µm (polyethylene glycol)
Nhiệt độ cột	38°C (1 phút) - 3°C/phút - 50°C (1 phút) - 35°C/phút - 250°C (3 phút)
Khí mang	Heli 1,2 mL/phút
Nhiệt độ đầu vào	150°C
Tỉ lệ chia dòng	Chia dòng 1/10
Thể tích tiêm mẫu	400 µL
Đầu dò	MS
Nhiệt độ đầu dò	250°C
Nguồn ion hóa	ESI
Ion chọn lọc	Methanol: m/z 29; ethanol: m/z 43; acetaldehyde: m/z 56

1 phút và tiến hành phân tích trực tiếp bằng hệ thống heaspace GC-MS.

2.4. Xác nhận phương pháp phân tích

Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) [11-13]: Chuẩn bị mẫu chuẩn có nồng độ trong khoảng 50 - 3200 µg/mL. Tiến hành đo độ hấp thụ trên thiết bị UV-Vis hoặc phân tích trên GC-MS thu được tín hiệu của chuẩn và tín hiệu của nền. LOD, LOQ được chấp nhận tại nồng độ mà tại đó có tín hiệu của chuẩn lớn gấp 3 và 10 lần nhiễu đường nền.

Đường chuẩn [11-13]: Được xác định bằng cách đo độ hấp thụ trên thiết bị UV-Vis hoặc phân tích sắc ký khí dãy nồng độ của mỗi chất methanol, ethanol, acetaldehyde, sử dụng nội chuẩn n-buthanol với nồng độ không đổi. Lập mối tương quan giữa tỉ lệ tín hiệu của chuẩn và nội chuẩn với tỉ lệ nồng độ chuẩn và nội chuẩn.

Độ đúng của phương pháp [11-13]: Được khảo sát qua hiệu suất thu hồi, tiến hành thêm chuẩn ở 3 mức nồng độ thấp, trung bình và cao vào mẫu thử tự tạo có nồng độ chất phân tích đã biết sao cho các nồng độ này đều nằm trong khoảng tuyến tính. Đối với phương pháp phân tích sắc ký, sử dụng thêm cùng 1 lượng chất nội chuẩn n-buthanol. Tại mỗi nồng độ thực hiện phân tích 6 lần, dựa vào đường chuẩn để tính nồng độ chuẩn thêm vào từ đó tính độ đúng thông qua hiệu suất thu hồi theo biểu thức:

$$H\% = \frac{C_{mẫu + chuẩn} - C_{mẫu}}{C_{chuẩn lý thuyết}} \times 100$$

Độ lặp lại [11-13]:

Độ lặp lại trong ngày: Chuẩn bị dung dịch mẫu chuẩn pha trong mẫu thử ở 3 mức nồng độ khác nhau, mỗi dung dịch thực hiện phân tích 6 lần, xử lý mẫu và phân tích như khi xác định độ đúng để tìm nồng độ chuẩn thêm, từ đó tính độ lệch chuẩn tương đối của các nồng độ chuẩn tìm được.

Độ tái lập trung gian: Tiến hành tương tự như độ lặp lại trong ngày, nhưng thực hiện phân tích các dung dịch ở 6 ngày liên tiếp. Tính độ lệch chuẩn tương đối của các nồng độ chuẩn tìm được.

Tính phù hợp của hệ thống sắc ký khí [11-13]: Phân tích sắc ký khí lặp lại 6 lần dung dịch mẫu chuẩn. Các kết quả thu được ứng với từng khảo sát được đánh giá và so sánh về thời gian lưu của chất phân tích (tR), độ phân giải (RS), hệ số đối xứng

peak (AS) và số đĩa lý thuyết. Từ đó đánh giá tính phù hợp của các điều kiện thiết bị phân tích.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Kết quả xác nhận phương pháp phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde theo phương pháp quang phổ UV-Vis

Phổ hấp thụ của các hợp chất màu được tạo thành do phản ứng của thuốc thử với các chất chuẩn methanol, ethanol, acetaldehyde ở các mức nồng độ khác nhau được trình bày trong Hình 1. Hợp chất màu của methanol, ethanol và acetaldehyde với thuốc thử lần lượt có bước sóng hấp thụ cực đại ở 570 nm, 595 nm và 570 nm. Các bước sóng này cũng là bước sóng tối ưu khi phân tích hàm lượng methanol, ethanol và acetaldehyde bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử.

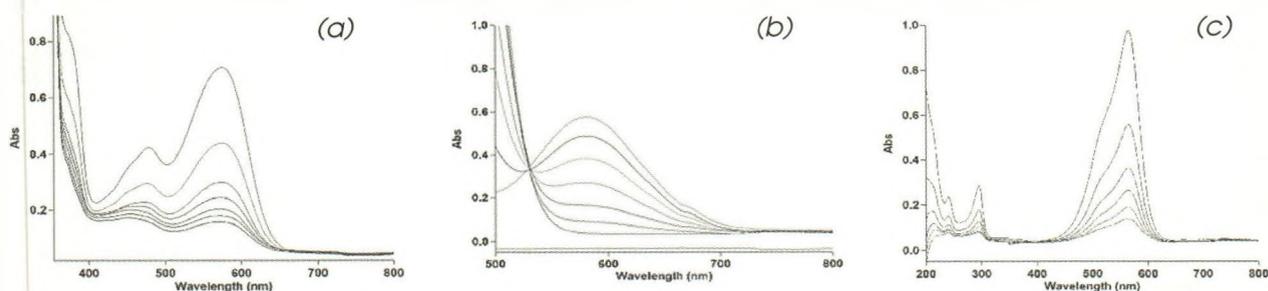
Kết quả xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp UV-Vis trong phân tích hàm lượng methanol,

ethanol và acetaldehyde trình bày trong Bảng 2. Kết quả xác nhận phương pháp trong Bảng 2 cho thấy giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng methanol, acetaldehyde phù hợp phân tích lượng vết 2 chất này trong sản phẩm rượu, bia. Ngoài ra, hiệu suất thu hồi, độ lặp lại của phương pháp phân tích đạt yêu cầu. Phương pháp phân tích quang phổ hấp thụ phân tử phù hợp để phân tích hàm lượng methanol, ethanol và acetaldehyde trong các mẫu bia, rượu [14].

3.2. Kết quả xác nhận phương pháp phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde theo phương pháp sắc ký khí GC-MS

Sau nhiều khảo sát cải tiến chương trình nhiệt trên thiết bị GC-MS, nhiệt độ ủ headspace, nhiệt độ buồng tiêm, nhiệt độ detector, tốc độ dòng pha động để chọn điều kiện tối ưu phân tích methanol, ethanol và acetaldehyde. Sắc ký đồ phân tích dung

Hình 1: Phổ hấp thụ của hợp chất màu thu được từ phản ứng giữa các thuốc thử tương ứng với (a) methanol, (b) ethanol, (c) acetaldehyde ở các mức nồng độ khác nhau



Bảng 2. Kết quả xác nhận phương pháp phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trên thiết bị UV-Vis

Thông số xác nhận phương pháp	Methanol	Ethanol	Acetaldehyde
LOD	0,92 mg/L	0,56 g/L	1,37 mg/L
LOQ	3,08 mg/L	1,86 g/L	4,57 mg/L
Đường chuẩn	Khoảng nồng độ: 5 - 80 mg/L A = (0,006191±0,000035)C + (0,211199±0,00884)	Khoảng nồng độ: 2,5 - 25 g/L A = (0,020138±0,000063)C + (0,049142±0,000883)	Khoảng nồng độ: 10 - 80 mg/L A = (0,011946±0,000872)C - (0,020091±0,003945)
Hiệu suất thu hồi (H%):	99,78% - 106%	96,9% - 102,3%	97% - 104%
Độ lặp lại trong ngày (RSD%)	0,49% - 3,67%	0,57% - 1,57%	2,71% - 3,46%
Độ tái lập trung gian (RSD%)	0,88% - 1,30%	0,59% - 1,03%	2,13% - 2,94%

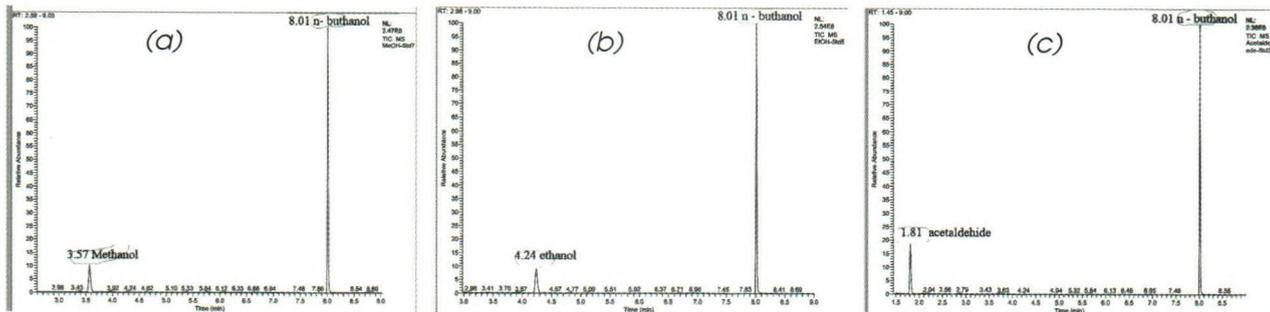
dịch chuẩn methanol, ethanol và acetaldehyde trên hệ thống sắc ký khí ghép nối khối phổ được trình bày trong Hình 2. Trên sắc ký đồ, thời gian lưu của methanol, ethanol và acetaldehyde lần lượt là 3,57 phút, 4,24 phút và 1,81 phút. Trong khi đó, thời gian lưu của chất nội chuẩn n - butanol là 8,01 phút. Độ rộng chân peak của methanol, ethanol và acetaldehyde lần lượt là 0,1 phút, 0,09 phút và 0,08 phút, cho thấy hàm lượng cao của ethanol không ảnh hưởng đến kết quả phân tích hàm lượng methanol, acetaldehyde trong các mẫu bia, rượu.

Kết quả xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp GC-MS trong phân tích hàm lượng methanol, ethanol và acetaldehyde trình bày trong Bảng 3. Kết quả xác nhận phương pháp trong Bảng 3 cho thấy giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, hiệu suất thu hồi, độ lặp lại của phương pháp GC-MS trong phân tích hàm lượng methanol, acetaldehyde phù hợp để phân tích lượng vết hai chất này trong sản phẩm rượu, bia. Giới hạn phát hiện, giới hạn

định lượng của phương pháp GC-MS thấp hơn so với phương pháp UV-Vis, điều này cho thấy phương pháp phân tích GC-MS có khả năng định lượng ở mức nồng độ nhỏ hơn so với phương pháp UV-Vis. Phương pháp phân tích GC-MS phù hợp để phân tích hàm lượng methanol, ethanol và acetaldehyde trong các mẫu bia, rượu [14]. Giá trị LOD, LOQ phân tích methanol trong nghiên cứu này thấp hơn nhiều so với nghiên cứu đã được công bố [8], do đó có thể định lượng vết của methanol trong mẫu bia, rượu.

Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống khi phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trên thiết bị GC-MS được trình bày trong Bảng 4. Độ phân giải khi phân tích methanol, ethanol, acetaldehyde đều lớn hơn 6, điều này cho thấy thiết bị GC-MS có khả năng phân giải peak của methanol, ethanol, acetaldehyde, nên không có ảnh hưởng lẫn nhau giữa các chất này trong mẫu bia, rượu. Với các điều kiện phân tích sắc ký khí

Hình 2: Sắc ký đồ của (a) methanol, (b) ethanol, (c) acetaldehyde



Bảng 3. Kết quả xác nhận phương pháp phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trên thiết bị GC-MS

Thông số xác nhận phương pháp	Methanol	Ethanol	Acetaldehyde
LOD	0,63 mg/L	0,55 mg/L	0,52 mg/L
LOQ	2,09 mg/L	1,83 mg/L	1,72 mg/L
Đường chuẩn	Khoảng nồng độ: 5 mg/L – 240 mg/L $y = (0,002508 \pm 0,000039)x + (0,000774 \pm 0,000304)$	Khoảng nồng độ: 50 mg/L - 2400 mg/L $y = (0,003296 \pm 0,000182)x + (0,050134 \pm 0,013529)$	Khoảng nồng độ: 5 mg/L – 240 mg/L $y = (0,016429 \pm 0,000783)x + (0,015183 \pm 0,009815)$
Hiệu suất thu hồi (H%):	96,28% - 103,88%	94,14% - 104,11%	95,49% - 106,15%
Độ lặp lại trong ngày (RSD%)	1,43% - 2,53%	0,42% - 2,11%	2,13% - 2,94%
Độ tái lập trung gian (RSD%)	1,15% - 1,78%	1,00% - 3,56%	1,32% - 2,68%

tối ưu, hệ số đối xứng của methanol, ethanol, acetaldehyde đều xấp xỉ giá trị 1 đơn vị, chứng tỏ các peak trên sắc ký đồ có tính đối xứng cao. Số đĩa lý thuyết của methanol là 34816 đĩa, của ethanol là 15810 đĩa cho thấy thiết bị GC-MS có hiệu năng tách methanol, ethanol cao. Số đĩa lý thuyết của acetaldehyde tương đối nhỏ, khoảng 7.361 đĩa, nghĩa là acetaldehyd có thời gian lưu ngắn, khó có khả năng tách tốt. Tuy nhiên, sắc ký đồ của mẫu rượu và bia trên Hình 3 cho thấy peak của acetaldehyde tách hoàn toàn khỏi các chất khác và không có peak của chất gây nhiễu khác. Do đó, có khả năng phân tích hàm lượng acetaldehyde trên thiết bị GC-MS. Như vậy, thiết bị GC-MS có tính tương thích hệ thống cao khi phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trong các mẫu bia, rượu.

3.3. Kết quả phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trong các mẫu bia, rượu

Hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trong các mẫu bia, rượu được phân tích theo 2 phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử và phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ được trình bày trong Bảng 5. Ngoài ra, Hình 3 thể hiện sắc ký đồ khi

phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trong một mẫu bia và một mẫu rượu sản xuất thủ công.

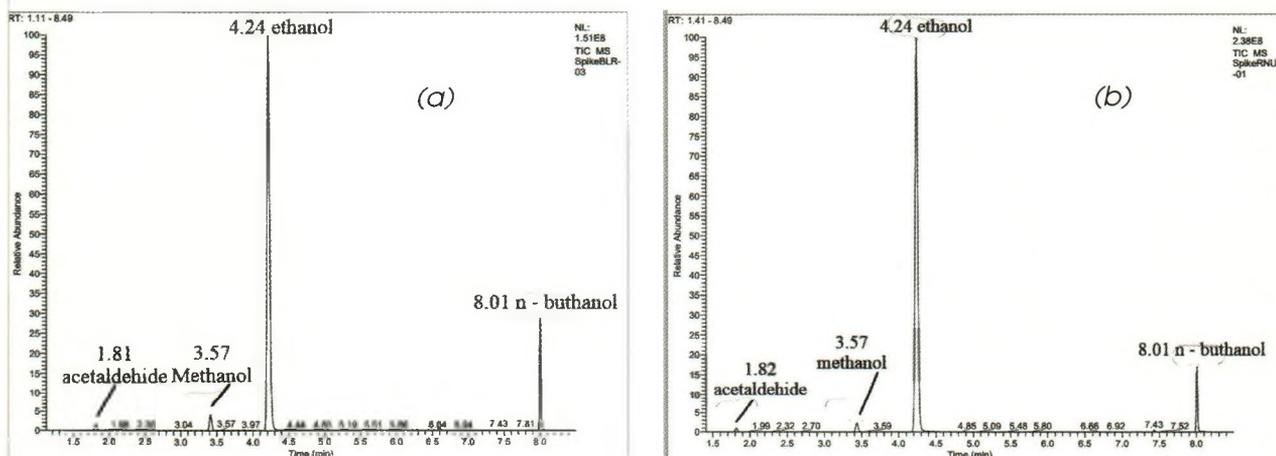
Kết quả phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trong các mẫu bia, rượu trong Bảng 3 cho thấy khi phân tích bằng phương pháp cổ điển cho giá trị kết quả cao hơn khi so sánh với phân tích trên thiết bị GC-MS. Nguyên nhân gây ra sự khác biệt kết quả hàm lượng các chất phân tích là do sự ảnh hưởng của nền mẫu phân tích có chứa các chất có khả năng phản ứng với thuốc thử làm tăng cường độ màu, từ đó gây nên sai lệch về kết quả phân tích khi thực hiện bằng phương pháp so màu cổ điển. Trong khi phân tích bằng thiết bị GC-MS, hàm lượng chất phân tích dựa trên diện tích peak của các mảnh ion đặc trưng. Nồng độ của chất phân tích tỷ lệ thuận với diện tích peak và không chịu ảnh hưởng của nền mẫu phân tích.

Trong 5 loại bia được lựa chọn phân tích, chỉ có 2 loại bia có sự hiện diện của methanol, tuy nhiên, mức hàm lượng này thuộc phạm vi cho phép của Bộ Y tế Việt Nam và Tổ chức Y tế Thế giới, nên nhìn chung không ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng [15, 16]. Trong 5 loại bia khảo sát, hàm lượng

Bảng 4. Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống khi phân tích hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trên thiết bị GC-MS

Chuẩn	Thời gian lưu (tR)	Độ phân giải (RS)	Hệ số đối xứng (AS)	Số đĩa lý thuyết (N)
Methanol	3,57 phút	6,22	1,09	34816
Ethanol	4,24 phút	38,41	1,07	15810
Acetaldehyde	1,81 phút	16,85	0,93	7361

Hình 3: Sắc ký đồ phân tích mẫu (a) bia, (b) rượu thủ công



Bảng 5. Hàm lượng methanol, ethanol, acetaldehyde trong các mẫu bia, rượu phân tích theo hai phương pháp UV-Vis và GC-MS

STT	Ký hiệu mẫu	Hàm lượng acetaldehyde (mg/L)		Hàm lượng methanol (mg/L)		Hàm lượng ethanol (%)	
		UV-Vis	GC-MS	UV-Vis	GC-MS	UV-Vis	GC-MS
<i>Các mẫu bia trên thị trường</i>							
1	BBV	10,41	9,88	0,83	0,63	4,66	4,53
2	BHD	5,07	4,65	N/A	N/A	4,85	4,80
3	BLR	13,94	13,22	1,96	1,43	4,55	4,51
4	BSG	8,22	7,59	N/A	N/A	5,92	5,86
5	BTG	7,11	6,89	N/A	N/A	5,56	5,46
<i>Các mẫu rượu có nhãn hiệu trên thị trường</i>							
6	VKNH	N/A	N/A	N/A	N/A	33,07	33,07
7	RDBT	N/A	N/A	N/A	N/A	33,34	33,24
8	RNUL	45,95	46,14	N/A	N/A	39,62	39,60
9	VKM	N/A	N/A	N/A	N/A	30,23	29,96
10	VKG	N/A	N/A	N/A	N/A	29,17	29,57
<i>Các mẫu rượu không rõ nguồn gốc trên thị trường</i>							
11	TCHĐ1	40,36	39,80	2,17	1,77	37,22	37,77
12	TCHĐ2	7,69	6,95	N/A	N/A	24,81	25,68
13	TCHH1	5,89	5,55	N/A	N/A	32,70	32,41
14	TCHH2	9,13	8,83	4,69	3,69	29,56	29,21
15	TCHV	77,43	75,96	69,57	68,75	30,44	32,75

acetaldehyde thay đổi tùy theo loại bia. Điều này cho thấy phương pháp lên men khác nhau và quy trình sản xuất bia không qua chưng cất, nên các sản phẩm phụ của quá trình lên men bao gồm acetaldehyde, methanol còn tồn tại trong hầu hết các sản phẩm bia, làm ảnh hưởng đến hàm lượng methanol và acetaldehyde trong sản phẩm.

Nhóm sản phẩm rượu sản xuất quy mô công nghiệp bao gồm các loại rượu vodka thông thường có hàm lượng ethanol ở mức cao trên 30%. Kết quả phân tích bằng cả 2 phương pháp cho thấy hàm lượng ethanol trong khoảng 30% - 40% tùy từng loại sản phẩm. Tuy nhiên, hầu hết các loại rượu này đều không có chứa các sản phẩm phụ methanol, acetaldehyde hoặc hàm lượng các chất này rất thấp không phát hiện được (ngoại trừ sản phẩm RNUL có chứa hàm lượng acetaldehyde khá cao, trên 40 mg/L). Kết quả này được giải thích do hầu hết sản phẩm rượu được sản xuất trên quy mô công nghiệp,

các cơ sở sản xuất sử dụng tháp chưng cất đa tầng trong quá trình chưng cất rượu giúp phân tách và hạn chế sản phẩm phụ tồn tại trong rượu.

Nhóm sản phẩm rượu sản xuất quy mô thủ công, nồng độ ethanol ở mức tương đối cao và hàm lượng ethanol tùy vào nhu cầu sử dụng của từng sản phẩm. Kết quả phân tích bằng cả hai phương pháp cho thấy hàm lượng ethanol nằm trong khoảng 25% - 40%. Hầu hết các mẫu rượu đều có chứa acetaldehyde, tuy nhiên tại mỗi đơn vị sản xuất khác nhau, hàm lượng có sự chênh lệch đáng kể. Hầu hết sản phẩm không chứa hoặc chứa rất ít methanol. Kết quả trên là do hầu hết các lò rượu thủ công tại địa phương đều sử dụng thiết bị chưng cất đơn giản hoặc tự thiết kế nên quá trình phân tách ethanol với các sản phẩm phụ chưa hoàn toàn triệt để do phụ thuộc nhiều vào hệ thống và điều kiện chưng cất. Vì vậy, hàm lượng methanol và acetaldehyde tại nhóm rượu sản xuất

theo quy mô thủ công có sự khác biệt rõ rệt giữa các đơn vị sản xuất. Hàm lượng methanol trong các mẫu rượu được khảo sát thấp hơn rất nhiều so với các mẫu rượu được các tác giả khác nghiên cứu [6, 17, 18].

4. Kết luận

Kết quả xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis và phương pháp phân tích sắc ký khí khi phân tích acetaldehyde, methanol và ethanol đạt yêu cầu. Cả 2 phương pháp này đều phù hợp để phân tích lượng vết các chất trong sản phẩm rượu, bia. Tuy nhiên, phương pháp phân tích sắc ký tốt hơn so với phương pháp phân tích quang phổ hấp thụ phân tử.

Lời cảm ơn:

Các tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ của các phòng thí nghiệm: Khoa Công nghệ Hóa học - Trường Đại học Công nghiệp TP. Hồ Chí Minh và Phòng thí nghiệm Đội kiểm định 1, Chi cục Kiểm định Hải quan 3.

Kết quả phân tích các mẫu bia, rượu cho thấy, đối với mẫu bia, do quy trình sản xuất không qua chưng cất, nên trong bia, ngoài ethanol còn có những sản phẩm phụ như methanol, acetaldehyde; đối với các mẫu rượu có nhãn hiệu, hầu như không có mặt methanol và acetaldehyde do quy trình sản xuất qua nhiều giai đoạn chưng cất phân tầng, nên loại được hầu hết các sản phẩm phụ; đối với mẫu rượu không nhãn hiệu, đây là những loại rượu sản xuất theo phương pháp thủ công, quá trình chưng cất không triệt để, nên vẫn còn các sản phẩm phụ như methanol, acetaldehyde. Tuy nhiên, hàm lượng của những sản phẩm phụ này không đáng kể, nên không ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng ■

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Alan J. Buglass, *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional Aspects*. 2011: John Wiley & Sons, Ltd.
2. Nguyễn Đình Thành, *Cơ sở Hóa học hữu cơ*. 2010: Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội.
3. QCVN 6-3:2010/BYT, *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với các sản phẩm đồ uống có cồn*. 2010, Bộ Y tế.
4. International Agency for Research on Cancer, *Alcohol Drinking*. Vol. 46. 1988: Medline. 419.
5. Ban Kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia - Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng - Bộ Khoa học và Công nghệ, *TCVN 8009:2009, Rượu chưng cất - xác định hàm lượng aldehyt*. 2009.
6. Yong-Sheng Li, La-Mei Mo and Xiu-Feng Gao, *Direct automatic determination of the methanol content in red wines based on the temperature effect of the $KMnO_4/K_2S_2O_8$ /fuchsin sodium sulfite reaction system*. RSC Advances, 2018. 8: p. 8426-8434.
7. Ban Kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia, - Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng - Bộ Khoa học và Công nghệ, *TCVN 8010:2009, Xác định hàm lượng metanol trong rượu chưng cất*. 2009.
8. Rosario Caruso, Grazia Laura Gambino, Monica Scordino, Leonardo Sabatino, Pasqualino Traulo and Giacomo Gagliano. (2011). Gas Chromatographic Quantitative Analysis of Methanol in Wine: Operative Conditions, Optimization and Calibration Model Choice. *Natural Product Communications*, 6(12), p. 1939-1943.
9. Meden F. Isaac-Lam. (2016). Determination of Alcohol Content in Alcoholic Beverages Using 45 MHz Benchtop NMR Spectrometer. *International Journal of Spectroscopy*, 2, p.1-8.
10. Malinee Sriariyanun et al. (2019). A rapid spectrophotometric method for quantitative determination of ethanol in fermentation products. *Oriental Journal of chemistry*, 35 (2): p. 744-750.
11. ICH. (Q2B) (1996). *Harmonized Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: Methodology*. Geneva: Proceeding of the International conference on Harmonization.
12. ICH. (1996). *Validation of Analytical Procedures: Text and methodology*, ICH Harmonised Tripartite Guideline.
13. European Communities. (2002). *The performance of Analytical Methods and interpretation of results*, (2002-657-EC).
14. Trần Cao Sơn, *Phương pháp thẩm định trong phân tích hóa học và vi sinh vật*. 2010: Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

15. World Health Organization. (1997). *International program on chemical safety, environmental health criteria no. 196: methanol*. Geneva: World Health Organization.
16. Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia, - Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng - Bộ Khoa học và Công nghệ, *Tiêu chuẩn Việt Nam 7043-2013, Rượu trắng 2013*.
17. Samuel Kofi Tulashie, Amponsah Preko Appiah, George Dzidefo Torku, Albert Yaw Darko & Augustus Wiredu. (2017). Determination of methanol and ethanol concentrations in local and foreign alcoholic drinks and food products (Banku, Ga kenkey, Fante kenkey and Hausa koko) in Ghana. *International Journal of Food Contamination*, 4(4): p. 1-5.
18. Greg Hodson, Eric Wilkes, Sara Azevedo, and Tony Battaglene. (2017). Methanol in wine. *BIO Web of Conferences*, 9, p. 1-5.

Ngày nhận bài: 1/4/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 14/4/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 22/4/2022

Thông tin tác giả:

1. TS. NGUYỄN QUỐC THẮNG¹

2. KS. PHẠM THỊ MINH TRANG²

¹Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

²Chi cục Kiểm định Hải quan 3

**DETERMINING ETHANOL, METHANOL,
AND ACETALDEHYDE IN ALCOHOL AND BEER
BY USING MOLECULAR ABSORPTION SPECTROMETRY
(UV-VIS) AND GAS CHROMATOGRAPHY
- TANDEM MASS SPECTROMETRY (GC - MS)**

● Dr. **NGUYEN QUOC THANG¹**

● BSc. **PHAM THI MINH TRANG²**

¹Industrial University of Ho Chi Minh City

²Customs Branch of Goods Verification No.3

ABSTRACT:

This study validated the determination method of ethanol, methanol, and acetaldehyde in alcohol and beer by using Molecular Absorption Spectrometry (UV-Vis) and Gas Chromatography - Tandem Mass Spectrometry (GC - MS). The concentrations of ethanol, methanol, and acetaldehyde in alcohol and beer were also determined. This study's results are initially used to determine the origin of alcohol and beer by the concentrations of ethanol, methanol, and acetaldehyde.

Keywords: ethanol, methanol, acetaldehyde, GC-MS, alcohol, beer.