

ĐỊNH LƯỢNG METHANOL TRONG RƯỢU UỐNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ

DETERMINATION OF METHANOL IN DRINKING WINE SPIRIT BY GAS CHROMATOGRAPHY

Phạm Thị Mai Hương^{1,*}, Lưu Thị Hồng Duyên¹, Vũ Ngọc Hải¹,
Trương Duy Trí¹, Trần Lương Tiến¹,
Nguyễn Minh Tuấn¹, Nguyễn Mạnh Hà¹

DOI: <http://doi.org/10.57001/huih5804.2025.136>

TÓM TẮT

Hàm lượng methanol trong một số loại rượu uống có độ cồn cao đã được xác định bằng phương pháp sắc ký khí với detector ion hóa ngọn lửa (GC-FID), chất nội chuẩn được sử dụng cho phương pháp xác định là acetonitrile. Các giá trị sử dụng của phương pháp thu được từ thực nghiệm như giới hạn phát hiện (MDL) đạt 5mg/L, giới hạn định lượng (LOQ) đạt 25mg/L, độ thu hồi đạt 94,39 - 98,45%, độ lệch chuẩn tương đối (RSD%) của độ lặp và độ tái lặp tương ứng là 4,05% và 5,19%. Các kết quả thu được cho thấy việc sử dụng (GC-FID) là phương pháp hoàn toàn thích hợp để phân tích methanol trong rượu.

Từ khóa: Rượu; methanol; sắc ký khí (GC); detector ion hóa ngọn lửa (FID); giới hạn phát hiện (MDL).

ABSTRACT

The methanol content in some high-alcohol drink was determined by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID), the internal standard used for the determination method was acetonitrile. The values of the method are obtained from experiments such as limit of detection (MDL) reaching 5mg/L, limit of quantification (LOD) reaching 25 mg/L, recovery reaching 94.39 - 98.45%, the relative standard deviation (RSD%) of repeatability and reproducibility are 4.05% and 5.19%, respectively. The obtained results show that using (GC-FID) is a completely suitable method for analyzing methanol in wine.

Keywords: White spirit, methanol, Gas chromatography (GC), flame ionization detector (FID), method detection limit (MDL).

¹Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: phammaihuong@hau.edu.vn

Ngày nhận bài: 15/10/2024

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 28/12/2024

Ngày chấp nhận đăng: 28/5/2025

1. MỞ ĐẦU

Methanol rất độc, gây hại cho cơ thể con người. Methanol được dùng trong công nghiệp làm dung môi hòa tan các chất hữu cơ hay chiết xuất các loại dầu và điều chế các chất công nghiệp. Đây là loại chất rất độc vì chúng thải trừ chậm, khi bị oxy hóa sẽ chuyển thành formaldehyd và axit formic, chính những chất này sẽ gây độc cho gan và thận gây suy thận cấp, gan nhiễm độc [1]. Khi ngộ độc methanol cấp tính có các biểu hiện: đau đầu, mệt, buồn nôn, nôn, giảm thị lực nặng hơn sẽ bị mù, co giật, giãn đồng tử suy sụp tuần hoàn, suy hô hấp, tử vong. Đối với

người bình thường chỉ cần uống phải 5 - 15ml methanol có thể gây ngộ độc nặng, 15ml trở lên là gây mù lòa, 30ml có thể gây tử vong [2].

Rượu là một loại đồ uống quen thuộc gắn liền với nét văn hóa của người Việt Nam, nhưng không thể phủ nhận những tác hại mà rượu gây ra. Theo báo của Bộ Y tế cho thấy, từ năm 2007-2017, cả nước có 58 vụ ngộ độc lớn khiến 382 người bị ngộ độc, 98 người tử vong [2]. Trong đó, có khoảng hơn 50% vụ ngộ độc là do rượu trắng có hàm lượng methanol cao vượt mức cho phép theo TCVN 7043:2013 [3]. Vào những tháng cuối năm 2023, vấn đề

ngộ độc rượu tiếp tục “nóng” trở lại. Có trường hợp xét nghiệm mẫu rượu trắng còn lại của bệnh nhân ngộ độc cho kết quả hàm lượng methanol cao hơn 30 lần mức cho phép [4]. Điều đáng nói, nguy cơ ngộ độc methanol rất cao bởi nhiều cơ sở sản xuất sử dụng loại cồn này để pha chế vì giá rẻ, khó phát hiện và dễ pha chế. Do đó, để bảo vệ người tiêu dùng, việc kiểm tra và đánh giá hàm lượng methanol trong rượu uống là một vấn đề cấp bách, phần nào có thể hạn chế thấp nhất những ca ngộ độc rượu có chứa hàm lượng methanol cao.

Hiện nay, có nhiều phương pháp để phát hiện, định lượng methanol như phương pháp chuẩn độ [5], phương pháp so màu dây chuẩn [6], phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao [7],... Tuy nhiên, việc lựa chọn sử dụng phương pháp định lượng methanol phụ thuộc vào từng đối tượng mẫu. Định lượng methanol trong thực phẩm cần đòi hỏi phương pháp có độ nhạy cũng như độ ổn định, độ chính xác cao.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng phương pháp sắc ký khí detector ion hóa ngọn lửa (GC-FID) với chất nội chuẩn acetonitrile để xác định hàm lượng methanol trong mẫu rượu trắng cùng với việc xác nhận các giá trị sử dụng của phương pháp bao gồm giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ lặp, độ tái lặp, độ thu hồi.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

Các hóa chất được sử dụng trong quá trình thực nghiệm: Acetonitrile (CH_3CN) $\geq 99,7\%$, Merck. Methanol (CH_3OH) $\geq 99,7\%$, Merck. Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) $\geq 99,7\%$, Merck. Nước deion dùng trong phòng thí nghiệm.

Dung dịch methanol 1000mg/L: cân 1g methanol (CH_3OH) $\geq 99,7\%$ và định mức thành 1000ml bằng nước deion.

Dung dịch acetonitrile 1000mg/L: cân 1g acetonitrile (CH_3CN) $\geq 99,7\%$, định mức thành 1000ml bằng nước deion.

Methanol được tiến hành phân tích trên thiết bị máy sắc ký khí 7890B GC-FID của hãng Agilent tại Phòng thí nghiệm phân tích và ứng dụng, Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.

2.2. Thu mẫu, xác định độ rượu, hàm lượng methanol trong rượu

Các mẫu rượu trắng không nhãn mác được thu thập tại khu vực quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội, được đóng vào chai nhựa PET đầy nắp kín và được bảo quản ở nhiệt độ 22 - 25°C.

Các mẫu rượu sau khi thu thập được xác định độ rượu theo tiêu chuẩn TCVN 8008:2009.

Chuẩn bị mẫu như sau: 0,6ml mẫu rượu, 1ml chất nội chuẩn ACN sau đó tiến hành sắc ký khí GC-FID để xác định hàm lượng methanol trong mẫu rượu.

Hàm lượng methanol (mg/L) quy về rượu 100° được tính dựa trên công thức:

$$C_{\text{MeOH}} = \frac{(y - a)}{b} \times C_{\text{ACN}} \times f \times \frac{100}{C}$$

Trong đó:

y là tỷ lệ giữa diện tích peak của MeOH và CAN;

a, b là hệ số trong phương trình đường chuẩn;

C_{ACN} là nồng độ của chất nội chuẩn ACN đã thêm vào mẫu (mg/L);

f là hệ số pha loãng;

100 là hệ số quy đổi;

C là độ rượu của mẫu rượu quy về 20°C.

Hàm lượng methanol trong các mẫu rượu được đánh giá theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7043:2013.

2.3. Xác nhận giá trị sử dụng

2.3.1. Đường chuẩn định lượng methanol

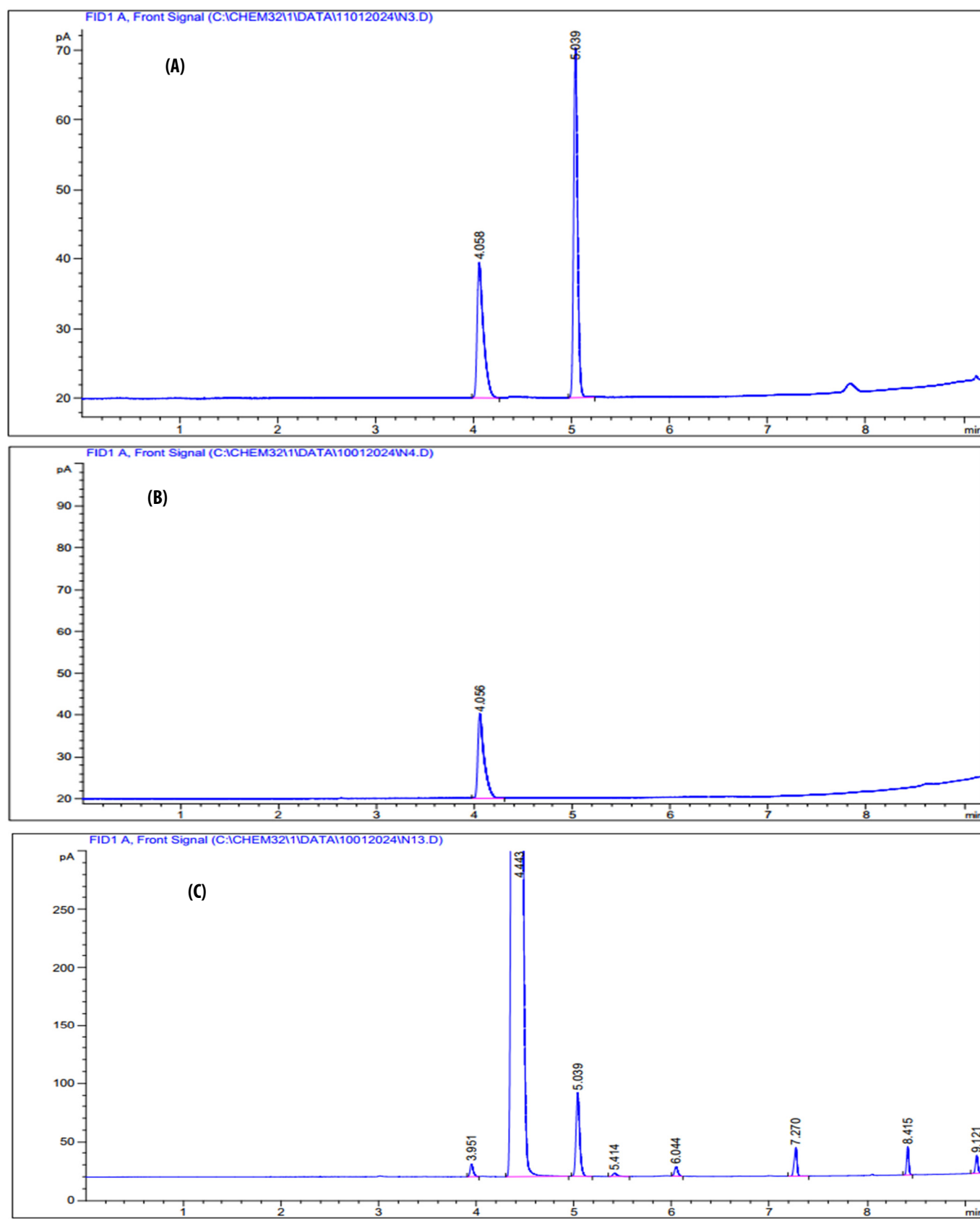
Đường chuẩn định lượng methanol (MeOH) được tiến hành xây dựng với chất nội chuẩn acetonitrile (ACN). Từ dung dịch chuẩn gốc của methanol 1000mg/L, acetonitrile 1000mg/L, chuẩn bị các mẫu theo các tỷ lệ 0,2:1; 0,5:1; 1:1; 3:1; 5:1; 10:1 (v/v), sau đó tiến hành phân tích mẫu trên hệ thống GC-FID thu được diện tích peak của MeOH và ACN, sử dụng phần mềm excel dựng được đường chuẩn sự phụ thuộc giữa tỷ lệ diện tích peak của MeOH/ACN vào tỷ lệ nồng độ của MeOH/ACN.

2.3.2. Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (LOQ)

Xác định giá trị MDL và LOQ bằng cách sử dụng đường nhiễu nền S/N (trong đó: S là chiều cao chất phân tích, N là đường nhiễu nền). MDL được chấp nhận tại nồng độ mà tại đó tín hiệu lớn gấp 2 - 3 lần đường nhiễu nền. LOQ được chấp nhận tại nồng độ mà tại đó tín hiệu lớn gấp khoảng 10 - 20 lần đường nhiễu nền [8]. Các giá trị được tính dựa trên phần mềm trên hệ thống GC của hãng Agilent.

2.3.3. Độ lặp và độ tái lặp

Việc xác định độ lặp, độ tái lặp của phương pháp được phân tích lặp lại 7 lần trên cùng mẫu thực và được tiến hành bởi hai thí nghiệm viên (TNV) khác nhau và trong hai ngày khác nhau. Độ lệch chuẩn được tính và so sánh theo AOAC.



Hình 1. Phổ đồ GC-FID: (A)-của MeOH; B-của MeOH, ACN; C- của mẫu rượu cùng chất chuẩn MeOH và chất nội chuẩn ACN

2.3.4. Độ thu hồi

Độ thu hồi được xác định bằng cách tiến hành thêm chuẩn ở ba điểm nồng độ thấp, trung bình, cao (157,85

mg/L; 360,00 mg/L; 529,41 mg/L). Chuẩn bị mẫu như sau: 0,6 ml mẫu rượu, 1ml chất nội chuẩn ACN 1000mg/L, thêm 0,3ml; 0,9 ml; 1,8 ml dung dịch chuẩn MeOH 1000mg/L tương ứng được các dung dịch tại 3 điểm nồng độ thấp, trung bình, cao.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các điều kiện chạy sắc ký GC-FID

Theo tài liệu tham khảo [9] và qua khảo sát, mẫu phân tích được tiến hành trên hệ thống GC-FID với các điều như sau:

Cột:	Cột mao quản DB-WAX, 0,25 μ m, kích thước 30m x 0,320mm
Injector:	180°C
Dectector FID:	H ₂ : 40ml/min Air: 400ml/min Nhiệt độ dectector: 240°C
Oven:	40°C giữ trong 1 min, gia nhiệt lên 100°C với tốc độ 12°C/min, gia nhiệt lên 180°C với tốc độ gia nhiệt 25°C/min
Thể tích bơm mẫu:	0,1 μ L
Tỉ lệ chia dòng	20:1

Kết quả sắc ký của chất chuẩn methanol, acetonitrile, ethanol và mẫu phân tích được thể hiện trên phổ đồ hình 1.

Kết quả cho thấy, peak của MeOH đều xuất hiện trên các phổ đồ (A), (B), (C) với thời gian lưu là khoảng 4 phút. Đối với peak của ACN xuất hiện trên các phổ đồ (B), (C) với thời gian lưu khoảng 5 phút. Đồng thời, trên phổ đồ (C) các peak của các chất tách rời nhau, điều này khẳng định các điều kiện chạy sắc ký GC-FID đã lựa chọn là phù hợp để định lượng methanol sử dụng chất nội chuẩn acetonitrile.

3.2. Thẩm định phương pháp định lượng methanol

3.2.1. Đường chuẩn định lượng methanol

Đường chuẩn định lượng methanol được biểu diễn bằng đồ thị sự phụ thuộc giữa tỷ lệ diện tích peak của MeOH/ACN vào tỷ lệ nồng độ MeOH/ACN được biểu diễn trên hình 2. Từ kết quả cho thấy, phương trình đường chuẩn là:

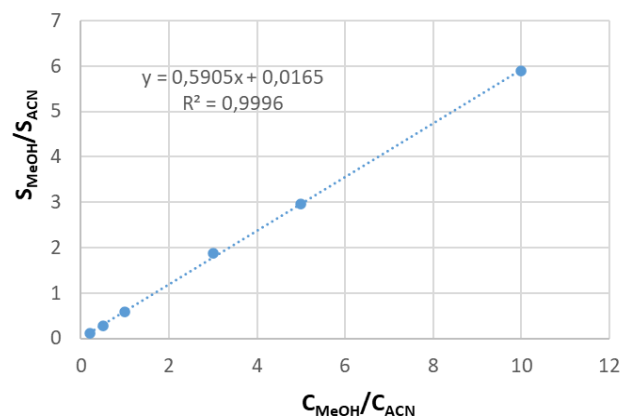
$y = 0,5905x + 0,0165$ với hệ số độ tương quan tuyến tính $R^2 = 0,9996$.

Trong đó:

y là tỷ lệ diện tích peak của MeOH/ACN

x là tỷ lệ nồng độ MeOH/ACN

Với hệ số tương quan tuyến tính $0,995 < R^2 = 0,9996 < 1$, cho thấy đường chuẩn đã xây dựng đạt độ tuyến tính cao trong khoảng tỷ lệ nồng độ MeOH/ACN từ 0,2:1 - 10:1, hoàn toàn có thể sử dụng để xác định hàm lượng methanol.



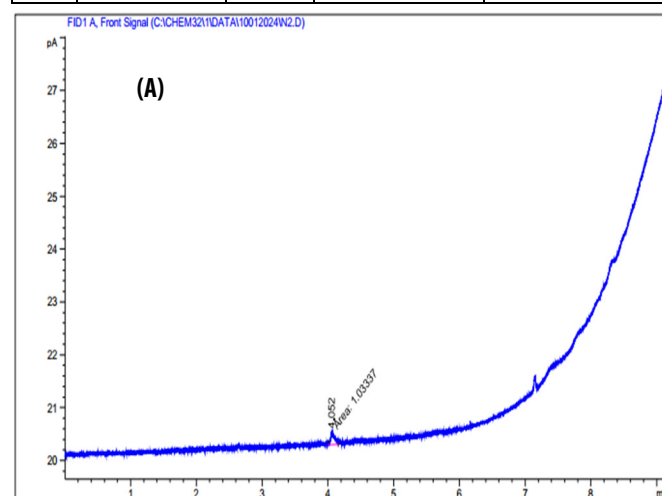
Hình 2. Đồ thị đường chuẩn định lượng methanol

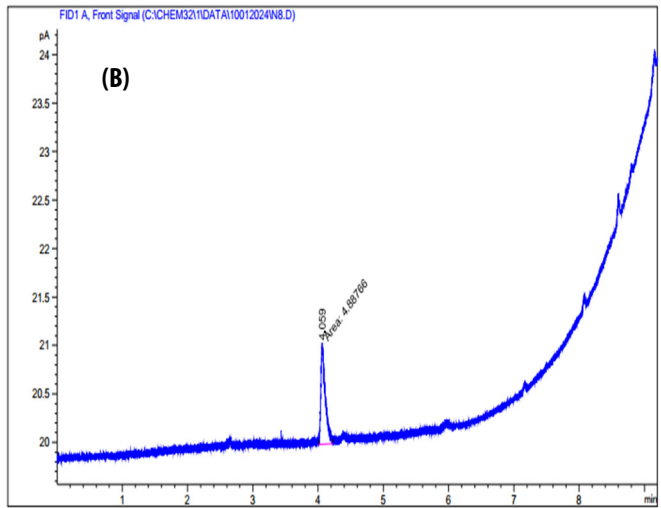
3.2.2. Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (LOQ)

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn methanol tại nồng độ 2, 5, 10, 20, 25 mg/L. Xử lý số liệu trên phần mềm của hệ thống GC thu được giá trị S/N được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xác định MDL, LOQ của phương pháp

STT	Nồng độ methanol (mg/L)	S/N	MDL (mg/L) ($2 < S/N < 3$)	LOQ (mg/L) ($10 < S/N < 20$)
1	2	1,54	Không đạt	Không đạt
2	5	2,55	Đạt	Không đạt
3	10	4,32	Không đạt	Không đạt
4	20	9,24	Không đạt	Không đạt
5	25	10,39	Không đạt	Đạt





Hình 3. Phổ đồ GC: (A) của mẫu chuẩn methanol 5mg/L; (B) của mẫu chuẩn methanol 25mg/L

Từ kết quả nhận thấy, tại nồng độ methanol 5mg/L tỷ lệ S/N = 2,55 là thỏa mãn với điều kiện của giá trị MDL, phổ đồ được thể hiện trong hình 3A. Như vậy, giới hạn phát hiện của phương pháp định lượng methanol MDL = 5mg/L. Tương tự, giới hạn định lượng của phương pháp định lượng methanol LOQ = 25mg/L, phổ đồ được thể hiện trong hình 3B.

3.2.3. Độ lặp và độ tái lập

Kết quả độ lặp và độ tái lập được trình bày trong bảng 2. Thục nghiệm cho thấy độ lệch chuẩn tương đối (RSD%) của độ lặp và độ tái lập đạt 4,05 - 5,19%, các giá trị đều nhỏ hơn 5,3% theo AOAC. Như vậy, độ lặp và độ tái lập của phương pháp đều đạt yêu cầu.

Bảng 2. Độ lặp và độ tái lập của phương pháp

TNV 1		TNV2	
STT	Hàm lượng methanol trong mẫu (mg/L)	STT	Hàm lượng methanol trong mẫu (mg/L)
1	448,51	1	462,93
2	484,94	2	457,24
3	505,14	3	517,65
4	483,69	4	441,48
5	489,71	5	497,28
6	509,10	6	515,41
7	484,62	7	511,17
Giá trị trung bình (n = 7)	486,53	Giá trị trung bình (n = 14)	486,35
SD	19,68	SD	25,25
RSD%	4,05	RSD%	5,19

3.2.4. Độ thu hồi

Độ thu hồi được trình bày ở bảng 3, kết quả cho thấy giá trị độ lệch chuẩn tương đối ở nồng độ thêm chuẩn thấp, trung bình, cao, với các giá trị đạt từ từ 94,39 - 98,45%. Như vậy, các giá trị độ thu hồi của phương pháp nằm trong khoảng 90 - 107% và đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn AOAC.

Bảng 3. Độ thu hồi của phương pháp

	STT	Hàm lượng methanol trong mẫu nền (mg/L)	Hàm lượng methanol thêm chuẩn (mg/L)	Hàm lượng methanol tổng (mg/L)
Nồng độ thêm chuẩn thấp	1	365,37	157,85	518,44
	2			511,96
	3			509,05
	4			522,92
	5			510,66
	8			514,69
	7			513,03
	Giá trị trung bình:			514,39
	H%			94,39
Nồng độ thêm chuẩn trung bình	1	365,37	360,00	724,97
	2			720,60
	3			720,61
	4			724,21
	5			695,98
	6			696,74
	7			698,14
	Giá trị trung bình:			711,61
	H%			96,18
Nồng độ thêm chuẩn cao	1	365,37	529,41	857,81
	2			864,23
	3			891,44
	4			887,49
	5			905,83
	6			905,83
	7			893,28
	Giá trị trung bình			886,56
	H%			98,45

3.3. Kết quả phân tích một số mẫu rượu trắng trên thị trường

20 mẫu rượu được thu thập trên địa bàn Bắc Từ Liêm, Hà Nội. Kết quả phân tích được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng methanol có trong mẫu rượu trắng

TT	Ký hiệu mẫu	Nhiệt độ đo độ rượu (°C)	Độ rượu biểu kiến	Độ rượu quy về 20°C	Hàm lượng methanol (mg/L) quy về rượu 100°
1	MR1	23,8	40	38,48	809,93 ± 36,77
2	MR2	24,1	38	36,36	975,80 ± 18,31
3	MR3	24,9	40	38,04	421,13 ± 32,68
4	MR4	24,0	40	38,40	6307,74 ± 101,48
5	MR5	23,8	38	36,48	602,68 ± 1,22
6	MR6	24,5	40	38,20	468,89 ± 2,02
7	MR7	23,3	38	36,68	192,19 ± 1,81
8	MR8	25,0	40	38,00	319,23 ± 3,79
9	MR9	24,6	35	33,16	488,09 ± 5,37
10	MR10	23,7	30	28,52	113,08 ± 0,08
11	MR11	24,2	30	28,32	KPH
12	MR12	24,7	37	35,12	54.315 ± 1,04
13	MR13	24,6	32	30,16	68,57 ± 0,41
14	MR14	23,5	35	33,60	KPH
15	MR15	23,3	35	33,68	2296,91 ± 11,97
16	MR16	24,9	36	34,04	246,17 ± 0,60
17	MR17	23,8	35	33,48	KPH
18	MR18	24,7	30	28,12	1342,33 ± 1,21
19	MR19	24,6	30	28,16	444,03 ± 44,75
20	MR20	23,5	38	36,60	332,33 ± 21,29
Các giá trị được tính trung bình ± SD (n = 3)					

Từ kết quả bảng 4 cho thấy, đa số các mẫu rượu trắng đều đạt tiêu chuẩn về hàm lượng methanol nhỏ hơn 2000mg/L theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7043:2013. Riêng có 02 mẫu rượu MR4, MR15 hàm lượng methanol vượt quá tiêu chuẩn cho phép, lần lượt có giá trị 6307,74mg/L và 2296,91mg/L.

4. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu lựa chọn các điều kiện thích hợp cho phương pháp đo sắc ký GC-FID xác định hàm lượng methanol trên nền mẫu rượu với cột mao quản DB - WAX 30m, 0,320mm, 0,25µm. Các giá trị của phương pháp được xác định: giới hạn định lượng LOQ = 25mg/L, độ thu hồi đạt 94,39 - 98,45%, độ lệch chuẩn tương đối (RSD%) của độ lặp và độ tái lặp tương ứng là 4,05% và 5,19%. Đã định lượng được methanol trong một số mẫu rượu trên địa bàn quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội bằng phương pháp GC-

FID. Phương pháp này có thể áp dụng để định lượng methanol nhằm kiểm soát chất lượng methanol có rượu uống trên thị trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bindler F., Voges E., Laugel P., "The problem of methanol concentration admissible in distilled fruit spirits," *Food Additive and Contamination*, 5, 343-351, 1988.
- [2]. Điểm tin Y Tế ngày 11/04/2017, <https://moh.gov.vn/diem-tin-y-te>.
- [3]. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 7043:2013 về Rượu trắng.
- [4]. Ngộ độc rượu methanol "nóng" trở lại, <https://hanoimoi.vn>.
- [5]. AOAC, *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 2016.
- [6]. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8010 : 2009 rượu chưng cất - xác định hàm lượng metanol.
- [7]. Chen S.H., Wu H.L., Yen C.H., Wu S.M., Lin S.J., Kuo H.S., "Trace determination of methanol in waterethanol solution by derivatization and high performance liquid chromatography," *Journal of Chromatography*, A 799, 93-99, 1998.
- [8]. Trần Cao Sơn, *Thẩm định phương pháp trong phân tích hóa học và vi sinh vật*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, Hà Nội, 2010.
- [9]. Mei-Ling Wang, Jih-Terng Wang, Youk-Meng Choong, "A rapid and accurate method for determination of methanol in alcoholic beverage by direct injection capillary gas chromatography," *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, 187-196, 2004.

AUTHORS INFORMATION

Pham Thi Mai Huong, Luu Thi Hong Duyen, Vu Ngoc Hai, Trương Duy Tri, Tran Luong Tien, Nguyen Minh Tuan, Nguyen Manh Ha

Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam