

连续流动分析法测定葡萄酒中总二氧化硫

金晓蕾, 罗洁*, 靳保辉, 王丙涛, 林志东, 陈波, 梁宏, 赵琼辉, 王宏菊

(深圳出入境检验检疫局食品检验检疫技术中心 深圳市食品安全检测技术研发重点实验室, 深圳 518045)

摘要: **目的** 建立连续流动分析仪测定不同类型葡萄酒中总二氧化硫检测的方法。**方法** 样品在酸性条件下蒸馏, 蒸馏液与甲醛及盐酸副品红反应生成红色络合物, 连续流动分析仪在 560 nm 波长处自动检测。吸取样品并配制好相应的试剂后在流动注射仪上自动完成分析过程。**结果** 与国家标准推荐的碘量法进行对比, RSD 小于 1.5%。同时测定了样品的加标回收, 回收率为 90%~105%, 标准物质含量的检测结果在允许范围内。**结论** 连续流动分析仪测定葡萄酒中总二氧化硫具有很好的准确性和重复性, 自动化程度高, 测试速度快, 适合于不同类型红酒分析, 是一种高效、快速的分析手段。

关键词: 总二氧化硫; 葡萄酒; 连续流动分析仪

Determination of total sulfur dioxide in wine by continuous flow analyzer

JIN Xiao-Lei, LUO Jie*, JIN Bao-Hui, WANG Bing-Tao, LIN Zhi-Dong, CHEN Bo, LIANG Hong, ZHAO Qiong-Hui, WANG Hong-Ju

(Shenzhen Key Laboratory of Detection Technology R & D on Food Safety, Food Inspection and Quarantine Center, Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518045, China)

ABSTRACT: Objective To develop an analytical method to measure total sulfur dioxide in different type of wine using continuous flow analyzer. **Methods** The sample was diluted in a sulfuric acid solution. After distillation, distillate reacted with formaldehyde and pararosaniline to form a red colored complex which was measured at 560 nm. Analysis was automatically completed by continue flow analysis when the samples and reagents were prepared. **Results** Compared with iodimetry method, it was found that the relative standard deviation (RSD) was less than 1.5%. Meanwhile, standard addition recovery of samples were measured, the rate of recovery was between 90%~105%. **Conclusion** Continuous flow analyzer has a very good accuracy and repeatability when estimating total sulfur dioxide in different types of wine, and is a highly automated, effective and fast-speed analysis method.

KEY WORDS: total sulfur dioxide; wine; continuous flow analyzer

1 引言

二氧化硫在葡萄酒生产过程中有抑菌、促进澄清、抗氧化等作用^[1], 但高含量的二氧化硫会使酒体

产生不愉快的气味和滋味, 人体摄入过量, 可能会产生不同程度的过敏反应, 引起气喘或呼吸困难^[2]。为了保障消费者的健康权益, 世界各国都严格规定了葡萄酒中二氧化硫的最高限量。在我国国家推荐标准

基金项目: 国家质检总局科研项目(2014IK124)

Fund: Supported by the Scientific and Technological Project of the General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China (2014IK124)

*通讯作者: 罗洁, 助理工程师, 主要研究方向为食品理化检测。E-mail: logiczjou@163.com

*Corresponding author: LUO Jie, Assistant Engineer, Food Inspection and Quarantine Center, Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No.1011, Fuqiang Road, Futian District, Shenzhen 518045, China. E-mail: logiczjou@163.com

GB/T 15037-2006《发酵酒卫生标准》^[3]中明确规定葡萄酒中总二氧化硫(SO₂)含量不超过 250 mg/L。葡萄酒中总二氧化硫的检测方法探讨多集中在几种传统的分析方法的探讨^[4-7], 这些方法普遍存在测试复杂、批量样品测试工作量大等缺点。关于连续流动分析仪的使用目前仅见梁宏等^[8]对比了连续流动分析仪和 4 种国家标准方法。在国内, 已经有部分企业采用连续流动分析仪测试葡萄酒中的挥发酸等成分^[9], 也有采用连续流动分析仪测试葡萄酒总二氧化硫、总糖等指标的报道。但是通过宏流和微流技术结合去测定总二氧化硫的文章鲜见, 更没有详细对温度和时间等参数充分优化的成熟分析方法。而自动化检测代替手工法是一个必然的趋势。本研究建立了连续流动分析仪测试不同类型葡萄酒中总二氧化硫的方法, 并且对连续流动分析仪测试过程的影响因素进行了探讨, 结果准确性和精度令人满意。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

Futura 连续流动分析仪(法国 Alliance 公司); PB1502 型电子分析天平(德国梅特勒-托利多公司); H50 冷却循环水(莱伯泰科); Gilson 移液器 1000~5000 μL(法国 Gilson 公司); 移液枪 5000 μL(Eppendorf); 超声器(德国 Elmasonic 公司); Millipore 纯水系统(美国 Millipore 公司)

氢氧化钠、硫酸、甲醛、碱性品红、磷酸均为分析纯, 亚硫酸钠为优级纯, 均购自于广州化学试剂厂; 碘标准溶液 0.02 mol/L, 硫代硫酸钠标准溶液 0.01 mol/L 均购自于深圳市博林达科技有限公司。实验用水为 18.2 MΩ 超纯水。

40 份葡萄酒样品由深圳口岸提供(产地: 法国、意大利; 品种: 赤霞珠、黑皮诺、长相思、雷司令等)。

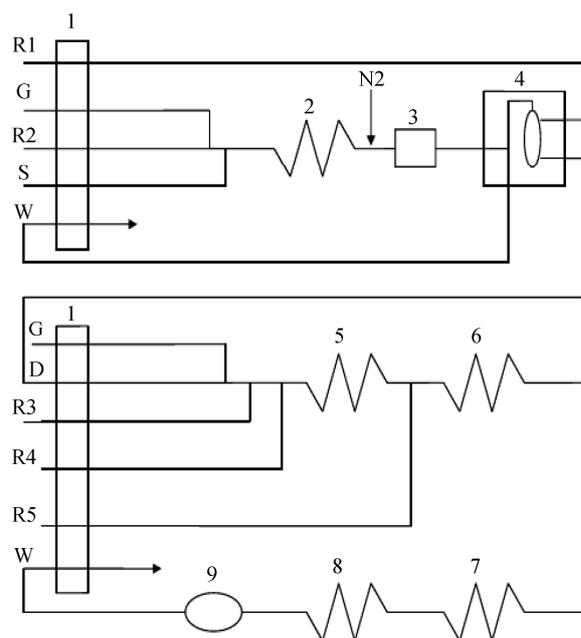
2.2 方 法

2.2.1 碘量法

GB/T 15038 — 2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》^[10]中的直接碘量法。

2.2.2 流动注射分析测定方法

样品在酸性条件下蒸馏, 蒸馏液与甲醛及盐酸副品红反应生成红色络合物在 560 nm 波长下检测。分析速度 30 样/h, 进样时间 60 s; 清洗时间 60 s; 寻峰时段 15~75 s; 在线蒸馏温度: 100 °C; 冷却循环水温度 8 °C; N₂ 纯度 99.9%, 流速 30~40 mL/min。见图 1



1. 蠕动泵: 控制流速, 以 mL/min 计; 2. 混合圈: 20 圈; 3. 加热池: 100 °C; 4. 在线蒸馏装置; 5. 混合圈: 5 圈; 6. 混合圈: 10 圈; 7. 混合圈: 20 圈; 8. 混合圈: 20 圈; 9. 检测池: 测量 560 nm; 参比 700 nm; R1. 氢氧化钠溶液; R2. 10%硫酸溶液; R3. 1%硫酸溶液; R4. 甲醛溶液; R5. 盐酸副品红溶液; S. 样品待测溶液; W. 废液; D. SO₂ 蒸馏液; G. 空气

图 1 连续流动分析系统测定总二氧化硫工作流程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of continuous flow analyzer to measure total sulfur dioxide in wine

3 结果与分析

3.1 蒸馏温度

在 80 °C~100 °C 温度范围内, 吸光度随着温度的升高而增加, 而在 100 °C~110 °C 时, 吸光度略有下降, 可能会导致气体来不及进入检测池进行反应, 使得吸光度下降。经过优化处理, 确定 100 °C 为最佳实验条件, 详见图 2。

3.2 进样时间

进样量由取样器的取样时间控制, 根据朗伯-比尔定律 $A=e \times b \times c$ (其中 e 为摩尔吸光系数, b 为光程, c 为样品浓度, 即样品所占反应体积的百分比)。进样量越小, 所占反应体积的百分比越小, 吸光度越弱; 进样量越大, 所占反应体积的百分比越大, 吸光度越强, 但是当进样量过大时, 多余的样品无法与试剂进行反应。由图 3 可知, 经过优化处理, 取样时间控制在 60 s 为宜。采样时间/清洗时间按照 1:1, 分析速度

30 样/h, 在此条件下可获得良好吸光度且能满足大批量样品高通量检测的需求。

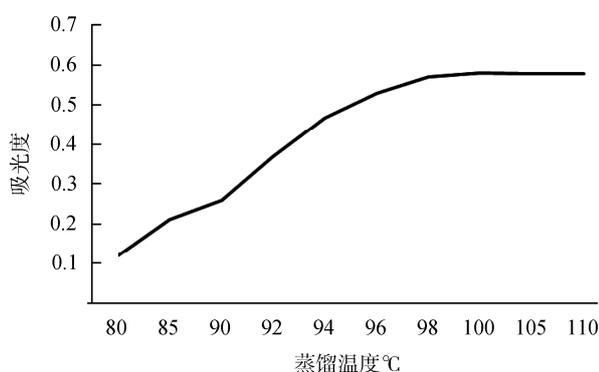


图 2 蒸馏温度对葡萄酒中总二氧化硫检测的影响

Fig. 2 Effects of temperature on results of determination of total sulfur dioxide

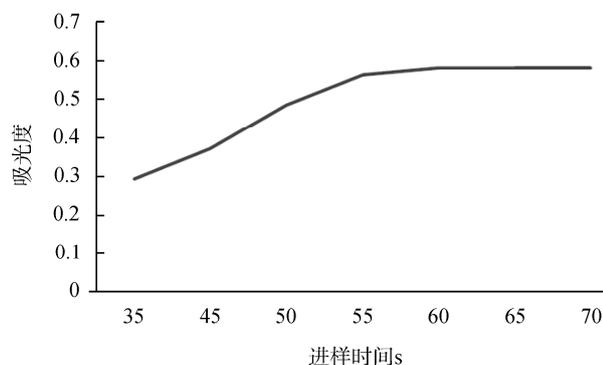


图 3 进样时间对葡萄酒中总二氧化硫检测的影响

Fig. 3 Effects of injection time on results of determination of total sulfur dioxide

3.3 连续流动分析仪测定葡萄酒中的总 SO₂

连续流动分析仪测定了葡萄酒中的总 SO₂, 其标准曲线见图 4。采用峰高法在显色反应达到稳态时测定吸光度。以 3 倍信噪比计算得到仪器的检出限为 5 mg/L, 绘制在 0~250 mg/L 检测浓度下的标准曲线为 $Y=239.678X+0.628$, 相关系数达到 0.9993, 满足分析要求。重复测定了同一样品 6 次, 其数值分别是 64.1、65.2、66.0、64.3、65.5 和 63.9 mg/L。经计算其相对标准偏差为 1.3%, 具有良好的重复性。采用连续流动分析仪的最大优势就是自动化操作, 取样后即可自动配置标准曲线、自动稀释、自动分析样品, 数据在线处理, 自动清洗管路, 大大节省人力物力, 提高检测效率。

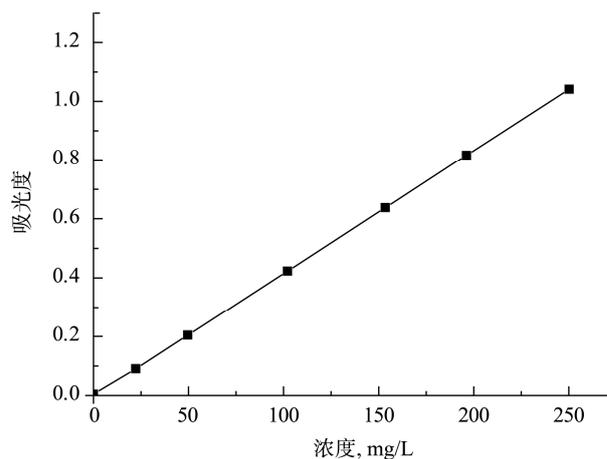


图 4 连续流动分析仪测定葡萄酒中总二氧化硫的标准曲线

Fig. 4 The standard curve of continuous flow analyzer to measure total sulfur dioxide in wine

3.4 回收率

为了验证连续流动分析仪测定的准确性, 在已知浓度的干红葡萄酒和起泡葡萄酒样品中分别加入一定量已知浓度的模拟酒液制成标准品, 测定总二氧化硫浓度。通过比较测定值与理论值, 获得标准品回收率。连续流动分析仪对同一样品分别平行测定 6 次, 同时测定添加水平 50 mg/L 的回收率。由表 1 可知, 不同类型葡萄酒样品加标回收率为 90%~105%, 样品标准偏差 < 1.5%^[11,12], 因此连续流动分析测定葡萄酒中的总二氧化硫具有良好的准确性和重复性。

3.5 不同类型葡萄酒中总二氧化硫的测定数据比较

葡萄酒中有平静葡萄酒和起泡葡萄酒, 在平静葡萄酒中选中了干红、干白和甜白葡萄酒, 另外选择了一种起泡葡萄酒(甜高泡)。采用连续流动分析仪测试了这四种酒中的总二氧化硫, 并与国标碘量法进行了对比。

从表 2 可以看出连续流动分析仪和直接碘量法对 4 种不同类型的葡萄酒进行检测, 数据偏差小于 5%, 满足偏差范围, 且连续流动分析仪法的数据低于直接碘量法测得的数据。在两种方法均可行的情况下直接碘量法测红葡萄酒时由于颜色上的影响, 在人工滴定时会影响对终点的判断, 导致最终检出结果偏高; 连续流动分析仪测定总二氧化硫采用蒸馏法, 消除样品本身由于颜色对测试带来的影响。采用直接碘量法测定起泡葡萄酒时, 超声后残留的气泡也会影响滴定的终点; 流动分析仪法测定起泡葡萄

表 1 不同类型葡萄酒总二氧化硫的加标回收率($n=6$)
Table 1 The standard addition recovery of total sulfur dioxide in different type of wine ($n=6$)

干红葡萄酒				起泡葡萄酒			
样品含量(mg/L)	样品加标(mg/L)	回收率(%)	RSD(%)	样品含量(mg/L)	样品加标(mg/L)	回收率(%)	RSD(%)
63.0	113.8	101.6	1.182	89.6	140.2	103.2	1.242
75.9	126.1	100.4	0.812	110.2	159.0	94.6	0.334
62.7	111.4	97.4	1.288	105.7	154.4	97.4	1.213
79.2	128.6	95.8	0.442	92.6	141.8	98.4	0.627
55.4	104.9	99.0	0.692	85.3	134.7	98.8	0.636
57.8	107.0	98.4	1.368	121.5	171.0	95.0	0.524
69.2	112.0	90.6	0.752	102.8	152.0	98.4	0.951
55.8	106.1	104.6	0.365	76.7	126.5	95.6	0.644
39.3	90.2	101.8	1.375	89.5	138.8	98.6	0.600
79.4	130.6	102.4	0.464	110.4	160.0	99.2	0.949

表 2 两种方法测定不同类型葡萄酒样品中总二氧化硫的结果对比
Table 2 Comparison of the determination results for total SO₂ using two methods

干红葡萄酒(mg/L)		干白葡萄酒(mg/L)		甜白葡萄酒(mg/L)		起泡葡萄酒(mg/L)	
连续流动分析法	直接碘量法	连续流动分析法	直接碘量法	连续流动分析法	直接碘量法	连续流动分析法	直接碘量法
63.0	64.1	90.4	91.6	241.9	242.1	115.0	116.2
75.9	76.7	64.1	65.3	239.1	240.5	105.7	106.3
62.7	63.3	68.9	70.7	185.9	186.3	108.9	110.6
79.2	80.6	78.2	79.8	155.0	155.4	113.5	141.7
55.4	56.3	81.6	82.5	119.1	119.8	97.1	98.4
57.8	58.5	87.2	88.4	201.7	202.1	101.0	101.8
69.2	70.1	85.7	86.2	238.0	239.1	112.0	113.2
55.8	56.7	73.0	74.4	228.0	228.4	99.2	100.1
39.3	40.6	82.4	83.7	191.2	191.7	96.5	97.6
79.4	80.2	89.7	90.8	237.0	237.9	120.1	121.8

酒时, 超声后残留的气泡会通过仪器上的排气泡装置从废液管排出, 从而消除气泡对结果的影响。因此连续流动分析仪消除了葡萄酒颜色和气泡等因素对实验带来的影响, 减少了人为因素带来的误差。

3.6 连续流动分析仪测定葡萄酒中的总二氧化硫的方法探讨

连续流动分析仪测试样品是在试剂过量的情况下进行的, 进样量的多少会影响吸光度, 即响应值。选择合适的进样量, 不仅保持较高的响应值, 并能够

清晰地将各吸收峰分开, 进样的快慢与混合圈的大小有关, 仪器若采用全部宏流方式运行, 即混合圈内径为 2 mm, 可以提高检测下限, 但会导致样品检测的分析速度下降; 仪器若采用全部微流的方式运行, 即混合圈内径为 1 mm, 可以提高待测样品的检测速度, 但检测下线会提高。目前在做红酒方面检测时采用微流技术, 既控制了进样量又可保证样品与试剂的混合度, 更好地完成检测。

因葡萄酒本底对盐酸副玫瑰苯胺法有干扰, 研究者对排除本底干扰也做了许多工作^[13-15]。连续流动

分析仪采用在线蒸馏, 馏分用氢氧化钠溶液吸收。蒸馏因素能够有效排除葡萄酒本底颜色对显色物质进行检测的干扰^[16]。蒸馏是影响总二氧化硫测定量的一个重要步骤。样品在酸性条件下进行蒸馏, 整个流路为密闭体系, 蒸馏温度为 100 °C, 蒸馏效果好。连续流动分析仪与盐酸副玫瑰苯胺法手工法相比, 试剂用量少, 有效减少实验室污染, 将试剂对实验室人员的人身安全降到最低。

4 结 论

连续流动分析仪测定不同类型葡萄酒中总二氧化硫的结果与国家标准碘量法的结果相符, 回收率为 90%~105%, 并优化了蒸馏温度与进样时间, 蒸馏温度控制在 100 °C, 进样时间控制在 60 s。分析测试过程自动化程度高, 减少了人为误差, 是一种快速、高效的分析仪手段, 在大样品量葡萄酒检测中, 能够节省人力物力, 提高经济效益。

参考文献

- [1] 柳琪, 滕葳, 王磊, 等. 二氧化硫与绿色食品葡萄酒贮藏稳定性关系的探讨[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(1): 146-150.
Liu Q, Teng W, Wang L, *et al.* To investigate the relationship between sulfur dioxide and storage stability of the green food Wine [J]. Food Res Dev, 2004, 25(1): 146-150.
- [2] 方强, 籍保平, 乔勇进, 等. 果酒中二氧化硫及其控制技术的研究进展[J]. 农业工程技术: 农产品加工, 2008, 2: 12-17.
Fang Q, Jie BP, Qiao YJ, *et al.* Research progress of sulfur dioxide and its control technology in ratafee [J]. Agr Eng Technol: Proc Agr Prod, 2008, 2: 12-17.
- [3] GB 15037 - 2006 葡萄酒[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
GB 15037 - 2006 Wines[S]. Beijing: China Standard Press, 2006.
- [4] 柳滢春, 王锐银, 巫敏玲, 等. 红葡萄酒中二氧化硫残留量测定方法的改进研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(12): 7407-7409.
Liu YC, Wang RY, Wu ML, *et al.* Improvement of determination method of residual sulfur dioxide in red Wine [J]. Anhui Agr Sci, 2012, 40(12): 7407-7409.
- [5] Navarro MV, Payán MR, López MA, *et al.* Rapid flow injection method for the determination of sulfite in wine using the permanganate-luminol luminescence system [J]. Talanta, 2010, 82(5): 2003-2006.
- [6] Gonçalves LM, Pacheco JG, Magalhães PJ, *et al.* Determination of free and total sulfites in wine using an automatic flow injection analysis system with voltammetric detection[J]. Food Addit Contam-Part A, 2010, 27(2): 175-80.
- [7] 何龙凉, 何宇玫. 不同方法测定进口葡萄酒中二氧化硫残留量的比较[J]. 大众科技, 2011, 11: 98-99.
He LJ, He YM. Comparison of sulfur dioxide residues in imported Winedetermination of different methods [J]. Popular Sci Technol, 2011, 11: 98-99.
- [8] 梁宏, 林燕奎, 王丙涛, 等. 葡萄酒中二氧化硫的几种检测方法对比[J]. 食品科学, 2012, 33(4): 178-181.
Liang H, Lin YK, Wang BT, *et al.* Comparison of several detection methods of sulfur dioxide in the Wine [J]. Food Sci, 2012, 33(4): 178-181.
- [9] 盛慧, 彭军, 姜忠军, 等. 利用葡萄酒自动分析仪测定葡萄酒中的挥发酸[J]. 酿酒科技, 2005, (5): 94-96.
Sheng H, Peng J, Jiang ZJ, *et al.* Determination of volatile acids in wine automatic analyzer using wine [J]. Brew Technol, 2005(5): 94-96.
- [10] GB/T 15038-2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
GB/T 15038-2006 Analytical methods of Wine and fruit wine[S]. Beijing: China Standard Press, 2006.
- [11] 韩忠霄, 孙乃有. 无机及分析化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
Han ZX, Sun NY. Inorganic and analytical chemistry [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [12] 辛述元. 无机及分析化学实验[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
Xin XY. Inorganic and analytical chemistry [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009.
- [13] 苏少英. 测定食品中亚硫酸盐的盐酸副玫瑰苯胺配制方法的改进[J]. 冷饮与速冻食品工业, 2000, 2: 20.
Su SY. Improvement of determination of sulfite in food by pararosaniline hydrochloridepreparation method [J]. Food Bever Ind, 2000, 2: 20.
- [14] 郎涛. 无汞吸收-盐酸副玫瑰苯胺比色法测定食品中的亚硫酸盐[J]. 食品工业科技, 2009, 6: 348-350.
Lang T. The determination of sulfite in food by hydrochloric pararosaniline methodmercury absorption [J]. Sci Technol Food Ind, 2009, 6: 348-350.
- [15] 李小那. 盐酸副玫瑰苯胺法测定葡萄酒中二氧化硫的方法探讨[J]. 酿酒, 2012, 39 (2): 76-78.
Li XN. Study on determination method of sulfur dioxide in the Wine pararosaniline hydrochloride method [J]. Brewing, 2012, 39(2): 76-78.
- [16] AOAC Official Method 990.28 16th Edition, Sulfites in Foods (Optimized Monier-Williams Method) [S].

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



金晓蕾, 助理工程师, 本科, 主要研究方向为食品理化检测。
E-mail: jxltina@126.com



罗 洁, 助理工程师, 本科, 主要研究方向为食品理化检测。
E-mail: logiczjou@163.com

“茶学研究”专题征稿函

我国是茶树的原产地和茶的祖国。茶是全球发展最快的无酒精植物饮料, 已被国内外公认为最健康的天然饮料。科学研究已经发现茶叶中所含的主要化学成分达 500 多种, 各种化学成分之间的组合比例十分协调。人们几千年的饮用实践表明, 茶具有生津止渴、提神醒脑、消脂去腻、杀菌消炎等生理作用, 现代医学与营养学研究证明茶具有降脂、减肥、降压、降糖、抗氧化、抗辐射、抗病毒、抗炎症、调节免疫、调理肠胃等药理功效。茶已经成为现代社会中人们生活、工作、休闲中不可或缺的健康饮品。

进入二十一世纪以来, 科学研究强力支撑着我国茶叶产业步入高速发展的鼎盛时期, 我国茶叶面积和产量位居全球第一、出口位居第二, 且保持着高比例的稳定增长。鉴于此, 本刊特别策划了“茶学研究”专题, 由中国茶叶学会副理事长、茶学教育部重点实验室主任、国家茶叶产业技术体系深加工研究室主任、湖南农业大学园艺园林学院刘仲华教授担任专题主编, 围绕茶叶质量与安全、茶叶制造化学、茶叶品质化学、茶叶功能成分利用、茶叶深加工、茶叶品质检验与标准化、饮茶与健康等或您认为本领域有意义问题展开讨论, 计划在 2015 年 2 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊编辑部及刘仲华教授特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2014 年 12 月 31 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部