

# 连续流动分析法测定葡萄酒中的总酸

黎欣欣, 梁言, 孙文佳\*

(广东省食品检验所, 国家白兰地、威士忌、伏特加和葡萄酒质量监督检测中心, 广州 510435)

**摘要: 目的** 建立连续流动分析法测定葡萄酒中总酸含量的方法。**方法** 采用全自动连续流动分析仪测定葡萄酒中总酸, 对蒸馏温度、进样时间进行优化。应用建立的方法对市售的新疆、山东、河北、宁夏 4 个产地的葡萄酒进行检测, 并与国标方法进行了结果比对。**结果** 葡萄酒中的总酸在 2~10 g/L 范围内线性关系良好, 回归系数  $r^2=0.9999$ , 检出限为 0.04 g/L, 定量限为 0.13 g/L。市售葡萄酒加标回收率在 95.8%~104.9% 之间, 相对标准偏差小于 1.0% ( $n=6$ ), 与国标方法比对结果无明显差异。**结论** 该方法简便快捷, 结果准确度高, 相比国标中的电位滴定法, 明显缩短了检测周期, 提高了检测效率, 可用于大批量葡萄酒中总酸含量的快速测定。

**关键词:** 总酸; 连续流动分析法; 葡萄酒

## Determination of total acid in wine by continuous flow analysis

LI Xin-Xin, LIANG Yan, SUN Wen-Jia \*

(National Product Quality Supervision and Inspection Center of Brandy, Whisky, Vodka and Wine, Guangdong Institute of Food Inspection, Guangzhou 510435, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of total acid in wine by continuous flow analysis. **Methods** Total acid in wine was determined by automatic continuous flow analyzer and the distillation temperature and sampling time were optimized. The method was applied to detect wines from Xinjiang, Shandong, Hebei and Ningxia, and the results were compared with the national standard method. **Results** Total acid content in wine had good linear relationships in the range of 2–10 g/L, and the correlation coefficient  $r^2$  was 0.9999. The limit of the detection was 0.04 g/L and the limit of quantification was 0.13 g/L. The recoveries were 95.8%–104.9%, with the relative standard deviations was less than 1.0% ( $n=6$ ). There was no significant difference between the results of comparison with the national standard method. **Conclusion** This method is simple in operation and high in accuracy. Compared with the potentiometric titration method in the national standard, this method obviously shortens the detection period and improves the detection efficiency, which can be used for rapid determination of total acid content in large quantities of wine.

**KEY WORDS:** total acid; continuous flow analyzer; wine

基金项目: 广东省食品检验所科技创新基金项目(2019JS04)

Fund: Supported by Science and Technology Innovation Fund Project of Guangdong Food Inspection Institute (2019JS04)

\*通讯作者: 孙文佳, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 445825252@qq.com

\*Corresponding author: SUN Wen-Jia, Master, Engineer, Guangdong Institute of Food inspection, National Product Quality Supervision and Inspection Center of Brandy Whisky Vodka and Wine, Guangzhou 510435, China. E-mail: 445825252@qq.com

## 1 引言

葡萄酒中含有一定量的酸,包括无机酸和有机酸,这些酸类物质是葡萄酒香气的重要组成成分,也是影响葡萄酒口感的关键因素<sup>[1]</sup>。总酸是衡量葡萄酒感官质量的重要指标之一。当葡萄酒的酸度较低时,酒体较为圆润与柔和,涩味也较轻,而酸度过高则酒体粗糙、瘦弱<sup>[2,3]</sup>。此外,总酸还与葡萄酒的稳定性有关,会影响葡萄酒中的酒石酸盐类的稳定性及微生物的繁殖,从而对葡萄酒储藏过程中的稳定性产生影响<sup>[4]</sup>。葡萄酒中总酸的测定有多种方法,通常采用国家标准 GB/T 15038-2006《葡萄酒、果酒通用分析方法》<sup>[5]</sup>中的方法,以氢氧化钠标准溶液滴定进行测定,但无论是采用指示剂法还是电位滴定法,步骤都比较繁琐,耗时长且消耗样品量大,受测定过程中不确定因素的影响也比较多<sup>[6]</sup>。贾柳君等<sup>[7]</sup>采用近红外光谱法对葡萄酒发酵液中的总酸进行测定,实现了对该指标快速准确的检验,但该方法需大量样品作为校正集与验证集,且数据处理方式较为繁杂。采用气相色谱结合液相色谱的方法亦可检测出总酸的含量<sup>[8]</sup>,但该方法的使用需建立在大量换算之上,非定性实验使用该方法过于繁琐。魏冬梅等<sup>[9]</sup>用等电位间隔电位滴定法测定了桑葚酒中的总酸,该方法亦可借鉴应用到葡萄酒的总酸分析中。连续流动分析仪技术是一种快速准确的分析技术,其广泛应用于环境、医药及化工领域,近年来逐渐被应用于饮用水、饮料以及酒类等液态食品的检测中,可用于测定总糖、总酸、挥发酸和二氧化硫等<sup>[10-13]</sup>常规检验项目,其具有检出限较低,动态线性范围较宽,自动化程度高,以及精密度较高等优势。本研究建立了连续流动分析仪测试葡萄酒中总酸的方法,并抽取国内 4 大产地(新疆、山东、河北、宁夏)的葡萄酒作为样品进行实验,优化了连续流动分析仪测定葡萄酒中总酸的进样条件与蒸馏条件,并考察其准确度与精密度,以期为测定葡萄酒中总酸含量建立一种准确、高效的全自动分析方法。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器、试剂与材料

SAN++连续流动分析仪(配备总酸分析模块,荷兰 Skalar 有限公司); SA1100 自动进样装置; 916Ti-Touch 自动电位滴定仪(配备 801 stirrer 磁力搅拌器,瑞士万通有限公司); ATY224 电子天平(日本岛津公司)。

磷酸二氢钾、十二水磷酸氢二钠、氯化钠、酚酞、无水乙醇、氢氧化钠(分析纯,广州化学试剂厂); 溴钾酚紫(分析纯,天津傲然精细化工研究所); 酒石酸(优级纯,上海麦克林生化科技有限公司); 10% Triton X-100 试剂、35.30% Brij 试剂(荷兰 Skalar 分析仪器

公司)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 试剂的配制

15%乙醇溶液: 取 150 mL 无水乙醇和 850 mL 一级水混合。

10%乙醇溶液: 取 100 mL 无水乙醇和 900 mL 一级水混合。

氢氧化钠标准溶液(0.1 mol/L): 称 4 g 氢氧化钠用一级水溶解后定容至 1000 mL。

缓冲溶液储备液: 称取 18.2 g 磷酸二氢钾,用一级水定容至 1000 mL,加入 3 mL 35.30% Brij 试剂。

缓冲溶液: 称取 50.0 g 氯化钠和 38.2 g 十二水磷酸氢二钠,加 900 mL 一级水溶解。加入 1 mL 10% Triton X-100 试剂,用缓冲储备液调节 pH 至 7.00±0.01。

酚酞指示剂(10 g/L): 称取 1 g 酚酞,用 95%乙醇溶解后定容至 100 mL。

储备指示剂: 称取 0.50 g 溴钾酚紫,加 50 mL 无水乙醇溶解,用一级水定容至 100 mL。

显色剂: 向 950 mL 一级水中加入 10 mL 储备指示剂和 1 mL 10% Triton X-100 试剂,用 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 5.00±0.01。

酒石酸储备液(100 g/L): 取 10 g 酒石酸用一级水溶解后定容至 100 mL。

#### 2.2.2 标准溶液的配制

酒石酸标准工作溶液: 分别取 2、4、6、8、10 mL 酒石酸储备液用 10%乙醇溶液定容至 100 mL 得到浓度为 2、4、6、8、10 g/L 的标准工作溶液。

#### 2.2.3 仪器条件

自动进样装置条件: 进样时间 60 s, 冲洗时间 70 s, 空气时间 3 s。

加热器温度: 120 °C。

峰检测器参数: 探测峰起始值: 0.04 ABS, 探测峰峰形宽度: 30%; 峰拒绝高度: 0.005 ABS, 峰形宽度: 30%。

检测波长: 460 nm。

#### 2.2.4 实验步骤

##### (1) 流动分析仪法

将试剂管放入相应的试剂瓶中,打开真空泵、循环冷却水、紫外灯、加热器,待温度达到 120 °C 后,查看基线,待基线稳定后进行分析。打开测定方法,编写标准序列表和样品测定序列表,按照序列表顺序放置标准样品及样品到相应的测定杯序,点击运行命令,测定标准序列和样品序列。

##### (2) 电位滴定法

按标准 GB/T 15038-2006<sup>[5]</sup>中 4.4.1 电位滴定法进行测定。

### 3 结果与分析

#### 3.1 蒸馏温度优化

每个样品进行 3 次平行测定, 结果见图 1。在 100~120 °C 温度范围内, 吸光度随着温度的升高而增加, 而在 120~130 °C 时, 吸光度趋于平稳, 响应值最佳。为缩短检测时间和节省试剂, 确定 120 °C 为最佳实验条件。

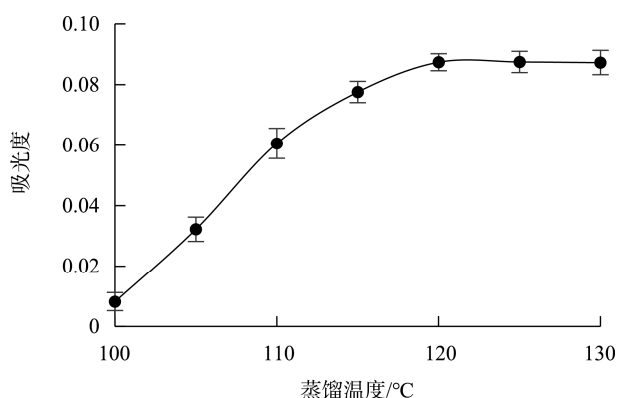


图 1 蒸馏温度对葡萄酒中总酸检测的影响( $n=3$ )

Fig.1 Effects of temperature on results of determination of total acid in wine( $n=3$ )

#### 3.2 进样时间优化

每个样品进行 3 次平行测定, 结果见图 2。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  $e$  为吸光度数;  $b$  为透射比,  $c$  为吸光物质的浓度)。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 2 可知, 从 60 s 开始吸光度趋于平稳。因此, 取样时间控制在 60 s, 在此条件下可获得良好吸光度且能满足大批量样品检测的需求。

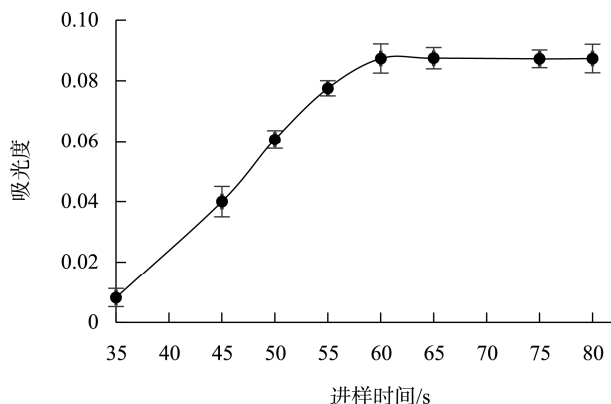


图 2 进样时间对葡萄酒中总酸检测的影响( $n=3$ )

Fig.2 Effects of injection time on results of determination of total acid ( $n=3$ )

#### 3.3 方法线性及检出限

对 2.2.2 配制的标准工作溶液在 2.2.3 仪器条件下进行检测, 以对应的总酸浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线图 3。结果表明, 该方法在 2.0~10.0 g/L 范围内线性关系良好,  $r^2=0.9999$ , 线性方程为  $Y=0.00876X+0.0005$ 。按照国际理论与应用化学联合会的规定<sup>[14]</sup>, 结合 11 针空白进样的结果, 计算得该方法的检出限为 0.04 g/L, 定量限为 0.13 g/L。

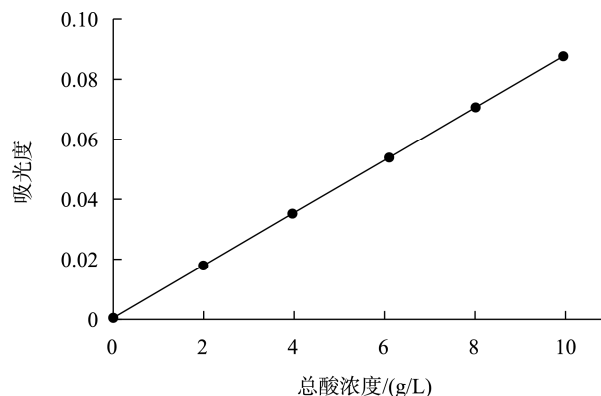


图 3 连续流动分析仪测定葡萄酒中总酸的标准曲线

Fig.3 The standard curve of continuous flow analyzer to measure total acid in wine

#### 3.4 精密度及回收率实验

选择产地为新疆、山东、河北和宁夏葡萄酒进行实验, 每个样品进行 6 次平行测定, 结果见表 1, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均小于 0.9%, 小于 GB/T 15038-2006 中总酸对精密度小于 3% 的要求<sup>[5]</sup>, 说明该方法重复性良好。用上述样品分别进行 2 个浓度水平的加标实验, 加标水平分别约为本底的 1/4 和 1/2, 每个浓度水平做 6 个平行样品, 结果见表 2。新疆、山东、河北和宁夏 4 个产地的葡萄酒 2 个不同浓度水平加标的回收率范围分别 95.8%~104.9%、97.0%~103.9%、100.9%~104.1%、97.5%~104.5%。2 个不同浓度水平加标的 RSD 在 0.8%~1.0% 之间, 方法回收率和精密度较高。

#### 3.5 连续流动分析法和电位滴定法比较

取上述 4 个产地的葡萄酒样品采用电位滴定法测定总酸的含量, 然后对 2 种方法的结果进行比较, 结果见表 3。采用 SPSS 软件对数据进行  $t$  检验,  $P$  值均大于 0.05, 故不拒绝原假设, 2 种方法测得的总酸不具有显著性差异。而连续流动分析法的相对标准偏差小于电位滴定法的相对标准偏差, 说明连续流动分析法的精密度高于电位滴定法。

表 1 重复性结果( $n=6$ )  
Table 1 Results of repetitive experiment ( $n=6$ )

样品	序号	测定值/(g/L)	RSD/%
新疆	1	4.11	0.7
	2	4.12	
	3	4.13	
	4	4.08	
	5	4.05	
	6	4.12	
山东	1	4.53	0.8
	2	4.45	
	3	4.49	
	4	4.44	
	5	4.47	
	6	4.52	

续表 1

样品	序号	测定值/(g/L)	RSD/%
河北	1	4.40	0.9
	2	4.36	
	3	4.35	
	4	4.31	
	5	4.32	
	6	4.30	
宁夏	1	3.92	0.7
	2	3.85	
	3	3.93	
	4	3.91	
	5	3.92	
	6	3.90	

表 2 加标回收结果( $n=6$ )  
Table 2 Results of recovery test ( $n=6$ )

样品	本底值/(g/L)	加标浓度/(g/L)	平均回收率/%	RSD/%
新疆	4.10	1.00	100.7	0.9
		2.00	101.8	0.8
山东	4.48	1.10	102.7	0.9
		2.20	103.2	0.9
河北	4.34	1.10	103.6	0.8
		2.20	102.8	0.8
宁夏	3.90	1.00	103.7	1.0
		2.00	100.2	0.8

表 3 连续流动分析法与电位滴定法测定葡萄酒中总酸结果比较  
Table 3 Comparison of total acid in wine by continuous flow analysis and potentiometric titration

样品	连续流动分析法		电位滴定法		P 值
	6 次测定的平均值/(g/L)	RSD/%	6 次测定的平均值/(g/L)	RSD/%	
新疆	4.10	0.7	4.20	1.2	0.166
山东	4.48	0.8	4.59	1.1	0.507
河北	4.34	0.9	4.42	1.3	0.192
宁夏	3.90	0.7	4.08	1.2	0.072

#### 4 结 论

本研究建立了连续流动分析法测定葡萄酒中的总酸

含量的方法。经过优化,当蒸馏温度为 120 °C、进样时间为 60 s 时,葡萄酒中的总酸在 2~10 g/L 范围内线性关系良好,回归系数  $r^2=0.9999$ ,检出限为 0.04 g/L,定量限为

0.13 g/L。将建立的方法应用于市售的新疆、山东、河北、宁夏 4 个产地的葡萄酒, 测定结果与国标方法测定结果无显著差异, 样品加标回收率在 95.8%~104.9%之间, 相对标准偏差 RSD 小于 1.0%。该方法结果准确度高, 可用于葡萄酒中总酸的测定。本方法自动化程度高, 大大降低了操作中人为误差的风险; 简便快捷, 相比国标 GB/T 15038-2006 中的电位滴定法, 明显缩短了检测周期; 试剂用量少, 在大批量的葡萄酒检测中, 可节约人力物力成本, 提高经济效益。

### 参考文献

- [1] 郭松年, 孙海燕, 房俊芳, 等. 气质联用仪对不同年份赤霞珠干红葡萄酒香气的测定分析[J]. 保鲜与加工, 2018, 18(4): 101-107.  
Guo SN, Sun HY, Fang JF, *et al.* Detection and analysis of the aroma of cabernet sauvignon dry red wine in different years by GC-MS [J]. *Stor Proc*, 2018, 18(4): 101-107.
- [2] 苏洁. 影响红葡萄酒圆润度关键因子的研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2014.  
Su J. Study on the key factors affecting the roundness of red wine [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2014.
- [3] 杨晓雁, 袁春龙, 张晖, 等. 酒度、总酸、pH 值以及饮用温度对干红葡萄酒涩味的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(21): 118-123.  
Yang XY, Yuan CL, Zhang H, *et al.* Effects of ethanol, total acid, pH and drinking temperature on the astringency of dry red wine [J]. *Food Sci*, 2014, 35(21): 118-123.
- [4] 邢凯, 张春娅, 张美玲, 等. 总酸、pH 值与红葡萄酒稳定性的关系[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2004, (5): 13-14.  
Xing K, Zhang CY, Zhang ML, *et al.* Relationship between total acid, pH and the stability of red wine [J]. *Sino Overseas Grape Wine*, 2004, (5): 13-14.
- [5] GB/T 15038-2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S].  
GB/T 15038-2006 Analytical methods of wine and fruit wine [S].
- [6] 张雪琰, 胡炜, 程刚, 等. 葡萄酒中总酸测量的不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(11): 136-139.  
Zhang XY, Hu W, Cheng G, *et al.* Uncertainty evaluation of determination of total acid in wine [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(11): 136-139.
- [7] 贾柳君, 张海红, 王健, 等. 采用近红外光谱定量分析葡萄酒发酵液中总酸含量和 pH 值[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(2): 191-195.  
Jia LJ, Zhang HH, Wang J, *et al.* Determination of total acid and pH in wine fermented liquid by near infrared spectroscopy technology [J]. *Food Ferment Ind*, 2017, 43(2): 191-195.
- [8] 熊秋萍, 谢小兰, 彭思妮, 等. 白酒检测中色谱法替代常规理化法检测总酸总酯的研究[J]. 酿酒科技, 2016, (7): 124-127.  
Xiong QP, Xie XL, Peng SN, *et al.* Detection of total acids & total esters

in baijiu by chromatographic method instead of conventional physicochemical method [J]. *Liquor Mak Sci Technol*, 2016, (7): 124-127.

- [9] 魏冬梅, 张莉, 梁艳英. 等电位间隔电位滴定法测定桑葚酒中的总酸[J]. 食品工业, 2015, (10): 280-281.  
Wei DM, Zhang L, Liang YY. Determination of total acid in mulberry wine by equipotential interval potentiometric titration [J]. *Food Ind*, 2015, (10): 280-281.
- [10] 何吉子, 刘青, 陈秀明, 等. 连续流动分析法在葡萄酒总糖检测中的应用[J]. 现代测量与实验室管理, 2015, (3): 11-13.  
He JZ, Liu Q, Chen XM, *et al.* Application of continuous flow analysis in the detection of total sugar in wine [J]. *Adv Meas Lab Manag*, 2015, (3): 11-13.
- [11] 宗绪岩, 边名鸿, 李丽, 等. 连续流动分析仪测定酒中总酸的方法研究[J]. 食品与发酵科技, 2012, (4): 100-102.  
Zong XY, Bian MH, Li L, *et al.* Study on the determination of total acid in wine by continuous flow analyzer [J]. *Food Ferment Ind*, 2012, (4): 100-102.
- [12] Urbano CM, Castro LD, Gómez-Nieto, MA. Fully automated flow injection analyser for the determination of volatile acidity in wines [J]. *J Wine Res*, 2006, 17(2): 127-134.
- [13] 金晓蕾, 罗洁, 靳保辉, 等. 连续流动分析法测定葡萄酒中总二氧化硫[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(11): 145-150.  
Jin XL, Luo J, Jin BH, *et al.* Determination of total sulfur dioxide in wine by continuous flow analyzer [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(11): 145-150.
- [14] 肖晶. 食品中元素类检验方法系列标准实施指南[M]. 北京: 中国质检出版社, 2017.  
Xiao J. Guidelines for the implementation of series standards for the inspection methods of elements in food [M]. Beijing: China Quality Inspection Press, 2017.

(责任编辑: 李磅礴)

### 作者简介

黎欣欣, 助理工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 422189872@qq.com



孙文佳, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全、酒类分析和真伪鉴别。

E-mail: yaya\_swj@163.com