

葡萄酒中硫化氢检测方法的研究

魏阳吉, 马丽艳, 李景明

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 在葡萄酒中, 较高浓度的含硫化合物对葡萄酒香气具有破坏作用, 是生产中需要严格控制的一种代谢产物。采用亚甲基蓝分光光度法, 建立了适用于葡萄酒中硫化氢含量检测的方法, 以氮气作为保护气条件, 于 80 °C 恒温水浴处理, 获得了较稳定的分析效果, 硫化氢检测回收率在 83.3 %~89.6 % 之间。采用该方法对不同陈酿期葡萄酒样品进行了分析, 结果表明该方法有效、可靠。

关键词: 检测方法; 亚甲基蓝分光光度法; 硫化氢; 葡萄酒

中图分类号: TS262.6; TS261.4; TS261.7; O657.3 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2010)02-0109-03

Determination Method of Hydrogen Sulfide Content in Grape Wine

WEI Yang-ji, MA Li-yan and LI Jing-ming

(Food Science Nutritional Engineering College of China Agriculture University, Beijing 100083, China)

Abstract: High content of sulfur compounds in grape wine would devastate grape wine aroma. Accordingly, strict control of sulfur compounds content in grape wine is necessary in the production. Methylene blue spectrophotometric method was applied to measure hydrogen sulfide content in grape wine in the conditions of nitrogen as protective gas; 80 °C constant temperature water-bathing, and stable analysis results were achieved with the recovery rate of hydrogen sulfide between 83.3 %~89.6 %. Such method was applied in the determination of grape wine samples of different aging period. The experimental results proved that the method was effective and reliable.

Key words: determination method; Methylene blue spectrophotometric method; hydrogen sulfide; grape wine

在葡萄酒酿造过程中,除了葡萄、葡萄汁本身有硫酸根提供硫以外,还要加入一定的二氧化硫以抑制杂菌污染。在后期瓶储陈酿过程中,由于葡萄酒自身的强还原作用,使得一些硫化物向硫化氢及硫醇方向转化,硫化氢有极其难闻的气味,通常被描述为臭蛋味、大蒜味、洋葱味等,在酒中的阈值很低,文献报道为 0.1 mg/L 或者更低的浓度,硫化氢即可对葡萄酒的香气构成破坏,对葡萄酒风味有极大的不良影响^[1]。因此,在葡萄酒生产和品质控制中,监控硫化氢的产生和含量十分重要。

硫化氢的检测方法在不同领域有多种,如河流污水中应用的亚甲基蓝分光光度法^[2]、荧光光度法测定^[3]、顶空气相色谱法^[4]、气相分子吸收光谱法^[5],空气中硫化氢检测应用的是低温吸附、热解吸气相色谱法^[6]等。虽然顶空气相色谱法、分子吸收光谱法等准确性和灵敏性都较亚甲基蓝分光光度法好,但是这些方法对实验条件及仪器要求过高,不适合在一般企业实验室推广应用。亚甲基蓝分光光度法成本较低,操作容易,比较适合企业实验室应用。其原理是用乙酸锌溶液吸收从葡萄酒样品中带出

来的硫化氢,生成硫化锌。在酸性介质中和三价铁离子存在下,硫化锌同 N,N-二甲基对苯二胺反应,生成染料亚甲蓝。通过用紫外分光光度计测量溶液吸光度的方法测定生成的亚甲蓝。

此法在操作中需要控温分解、充气保护,所以会受到加热条件、气流稳定性等外界干扰因素的影响。另外,硫化氢从葡萄酒中被氮气吹出,还存在气相间的相对平衡,因此检测过程中往往结果会偏小。改进的亚甲基蓝分光光度法,其原理基本一致,对试验条件、操作顺序等进行了优化,在不提高成本的前提下,使得试验更加准确便捷。

目前,我国只有对城市污水中硫化物的检测方法的国标(GB/T 16489—1996),在液体食品检测中,只有啤酒参照此国标建立了硫化氢的检测方法,尚未有葡萄酒中硫化氢检测方法的报道。与啤酒相比,葡萄酒中存在大量的多酚类化合物、色素、多糖等干扰因素,需要进行方法的改进。本研究以城市污水中硫化物的测定及啤酒中硫化氢的检测方法为参照,拟建立适合于葡萄酒体系的硫

基金项目 北京市教育委员会产学研合作项目资助。

收稿日期: 2009-11-02

作者简介: 魏阳吉, 大学本科。

通讯作者: 李景明, 研究方向为葡萄与葡萄酒化学。

化氢检测方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

均用分析纯试剂和蒸馏水。对氨基 N,N 二甲基苯胺盐酸盐,硫酸高铁胺 $[\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$, 碘酸钾标准溶液(KIO_3 0.0150 mol/L), 硫代硫酸钠标准溶液($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.015 mol/L), 硫化钠 $[\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}]$ 、醋酸锌 $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 、氨水、磷酸等,其中硫化钠需要进行标定后作为标准溶液使用。

1.2 试验方法

借鉴“水质硫化物的测定-亚甲基兰分光光度法”(GB/T 16489—1996)^[7]和啤酒中硫化氢的检测方法^[8-9]。利用葡萄酒、果酒通用分析方法(GB/T 15038—2006)中,氧化法检测游离二氧化硫的测定装置,按照以下操作进行:取 50.0 mL 实验室样品放入 100 mL 蒸馏瓶,加入 2 滴甲基橙指示剂。于 50 mL 梨形瓶中加入醋酸锌溶液及氨水溶液各 1 mL,2 滴酚酞指示剂及约 10 mL 水,作为吸收液。用氮气作为载气及保护气充入酒样,带出硫化氢气体,用 80 °C 热水浴进行控温,充气提取 30 min,在所得的溶液中加入 2 mL 对氨基 N,N 二甲基苯胺溶液,立即加入 2 mL 硫酸高铁胺溶液,转移到 50 mL 容量瓶中,用水稀释至 50 mL,摇匀,放置 15 min 以水为参照,在 670 nm 处,用 10 mm 比色皿测定吸光度。

1.2.1 标准曲线的制作

用蒸馏水配制浓度分别为 0、0.010 mg/L、0.06 mg/L、0.12 mg/L、0.24 mg/L、0.48 mg/L 和 0.96 mg/L 硫化钠溶液各 25 mL。在 50 mL 的蒸馏瓶中,加入醋酸锌溶液及氨水溶液各 1 mL,2 滴酚酞指示剂及约 10 mL 水,再加入配制好的 25 mL 硫化钠溶液,在所得溶液中加入 2 mL 对氨基 N,N 二甲基苯胺溶液,立即加入 2 mL 硫酸高铁胺溶液,用水稀释至 50 mL,摇匀,放置 15 min 以水为参照在 670 nm 处,用 10 mm 比色皿测定吸光度。以硫化氢浓度为横坐标,OD 值为纵坐标,制作硫化氢标准曲线,同时做 3 个独立重复。

1.2.2 检测时间的影响

配制 1.0 mg/L、1.2 mg/L 两个不同浓度的硫化钠溶液各 25 mL,按照 1.2.1 操作,用水稀释至 50 mL 后摇匀,直接从 2 min 开始,在 670 nm 下,每隔 1 min 测定 1 次吸光值,直到 60 min,共 59 个点。

1.2.3 加标回收实验

分别取蒸馏水(对照)和浓度为 0.03 mg/L、0.12 mg/L 和 0.48 mg/L 的硫化钠标准溶液各 2 mL,加到 48 mL 相同成品酒样中,其他步骤不变,分别测定对照和加标后的

样品中硫化氢的含量,计算回收率,做 3 个独立重复。

1.2.4 吹气时间的影响

氮气作为载气,将酒中含有的硫化氢气体带出,实验过程中,为了解氮气的吹气时间对检测结果的影响,配制 0.28 mg/L 的硫化钠溶液分别在 15 min、20 min、30 min 和 40 min 吹气条件下,进行测定,得到相应的 OD 值。

1.2.5 锌粉的影响

“水质硫化物的测定-亚甲基兰分光光度法”(GB/T 16489—1996)方法中,要加入锌粒,以产生氢气作为保护气体,经过优化实验,改用氮气作为载气及保护气,在此条件下,为检测锌粉的影响,配制硫化氢溶液 100 mL,平均分为 2 组,分别为加锌粉和不加锌粉,其他条件不变,测定其 OD 值。

2 结果与析

2.1 标准曲线的制作

在 670 nm 波长下,用标定的硫化钠标准溶液制备标准曲线,结果见图 1。

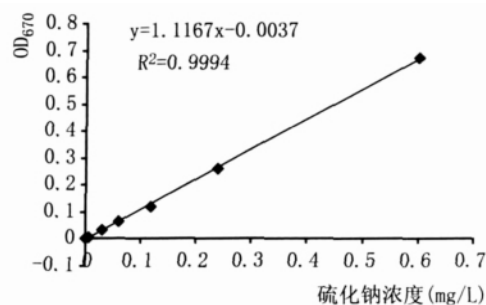


图1 硫化钠标准曲线

由图 1 可知,在硫化钠浓度为 0~0.60 mg/L 范围内,硫化钠浓度与 OD 值成显著的直线相关,相关方程为: $Y=1.1167X-0.0037$,相关系数达到 0.9994。说明反应后生成的亚甲基蓝的浓度与硫化氢的浓度成显著的线性正相关关系。

硫化氢浓度与硫化钠之间的关系为 $X^*=X \times 78/34$ 。

因此,吸光值(Y)与硫化氢浓度(X^*)之间的关系为 $Y=1.1167 X^* \times 34/78-0.0037$

2.2 检测时间的影响

检测时间的影响结果见图 2。由图 2 可知,在 60 min 检测时间内,反应物的浓度呈现下降趋势。因反应时需要一定的反应时间,因此,考虑实验操作的可行性,在实际测定过程中,采取 15 min 静置后立刻进行检测,特别是低浓度样品。

2.3 加标回收实验

分别取蒸馏水(对照)和浓度为 0.03 mg/L、0.12 mg/L 和 0.48 mg/L 的硫化钠标准溶液各 2 mL,加到 48 mL 相

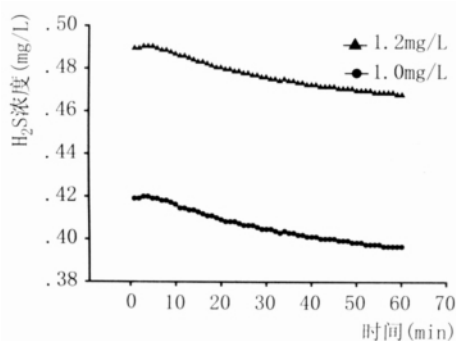


图2 检测时间的影响

同成品酒样中,其他步骤不变,结果见表1。

表1 回收率实验 (n=3)

初始硫化氢含量 (mg/L)	加入量硫化氢 (mg/L)	检测到硫化氢含量 (mg/L)	回收率 (%)
0.039	0.03	0.040	83.3
0.039	0.12	0.043	89.6
0.039	0.48	0.058	84.9

从表1可看出,向葡萄酒体系中加入0.03 mg/L、0.12 mg/L和0.48 mg/L硫化氢标准液时,回收率都比较稳定,回收率在83.3%~89.6%之间。作为葡萄酒中低浓度、挥发性气体的检测,本方法是比较稳定、可靠的。

2.4 N₂吹气时间影响

采取惰性气体N₂吹气的方法,可以保护并提取出葡萄酒样品中硫化氢成分。但N₂吹气时间也影响着提取效果。通过实验数据可以看到,在15~30 min时间内,硫化氢浓度在逐渐增加,直到30 min后开始稳定,至40 min仍无较大变化,因此考虑回收率、实验时间等方面,吹气时间应定在30~35 min为适宜。

表2 吹气时间实验 (n=3)

条件	吸光值			浓度(mg/L)
加锌粉、磷酸, 15 min	0.217	0.217	0.218	0.198±0.0005
加锌粉、磷酸, 20 min	0.249	0.253	0.251	0.228±0.0018
加锌粉、磷酸, 30 min	0.295	0.297	0.291	0.267±0.0027
加锌粉、磷酸, 40 min	0.296	0.298	0.297	0.269±0.0009

2.5 锌粉的影响

根据实验数据比较,不加锌粉的硫化氢较加锌粉的得率要高,综合经济等方面的因素,锌粉可以不用添加。

表3 锌粉的影响实验 (n=3)

条件	吸光值			浓度(mg/L)
加锌粉、磷酸	0.0247	0.0253	0.0251	0.026±0.0002
不加锌粉、磷酸	0.0300	0.0321	0.0290	0.030±0.0014

2.6 样品的检测与分析

采用本实验建立的提取、分析方法,检测了5种不同的葡萄酒中硫化氢的含量,结果见表4。

表4 不同葡萄酒样品中硫化氢含量的检测

样品	硫化氢含量 (mg/L)
2007年赤霞珠葡萄酒	0.042±0.0010
2006年赤霞珠葡萄酒	0.045±0.0037
2004年赤霞珠葡萄酒	0.062±0.0014
2004年赤霞珠葡萄酒	0.076±0.0014
2003年赤霞珠葡萄酒	0.060±0.0010

由表4结果可以看出,在所检测的5种葡萄酒样品中,都能够检测到硫化氢的存在。其中,2003~2004年度葡萄酒由于陈酿时间较长,硫化氢含量明显高于2006~2007年的新酒样品。证明陈酿在带来葡萄酒品质的稳定、成熟的同时,也会因过度的还原作用而导致硫化氢的形成。

3 结论

以城市污水中硫化物的测定及啤酒中硫化氢的检测方法为参照,拟建立了适合于葡萄酒体系的硫化氢检测方法。检测应用研究结果表明,本方法具有操作简单、干扰小、稳定性较高、分析速度快等优点,适用于葡萄企业对硫化氢的快速检测。

参考文献:

- [1] 孙方勋.葡萄酒酿造中硫化氢形成机理的探讨[J].酿酒,1988,(6):15-17.
- [2] 祁娟娟等.水中硫化物测定方法的改进[J].内蒙古环境保护,2004,(1):36-37.
- [3] 王喜全,佟岩.荧光分光光度法测定废水中微量硫化物[J].理化检验-化学分册,2004,(6):322-325.
- [4] 王永华.顶空气相色谱法测定沉积物中可酸挥发硫化物[J].分析化学研究简报,2003,(1):55-57.
- [5] 李孝晗.原子吸收分光光度计测定水中硫化物-气相分子吸收光谱法[J].酒钢科技,2007,(2):41-46.
- [6] 李新华,刘景双,贾益群.低温吸附、热解吸气相色谱法测定痕量气体硫化氢[J].分析测试学报,2006,(3):68-69.
- [7] GB/T 16489—1996,亚甲基蓝分光光度法[S].
- [8] 王梅(译).一种简单的测定啤酒中硫化氢浓度的方法[J].啤酒科技,2001,(12):53-55.
- [9] 丁书美,陈叶福,肖冬光.啤酒中硫化氢测定方法的研究[J].酿酒,2006,(6):94-95.
- [10] 李仲超.硫化氢在啤酒酿造中的形成与控制[J].酿酒,2001,28(5):55-57.
- [11] 管敦仪.啤酒工业手册(修订版)[M].北京:中国轻工业出版社,1998.376-378.

欢 迎 订 阅 《 酿 酒 科 技 》