

近红外光谱法快速测定饮料酒中酒精度

欧昌荣¹, 汤海青², 殷居易², 曹锦轩¹, 吴维儿², 陈梅珍², 何卫敏²

(1. 宁波大学海洋学院, 浙江宁波 315211) (2. 宁波出入境检验检疫局技术中心, 浙江宁波 315012)

摘要: 研究了近红外光谱法快速测定饮料酒中酒精度的技术方法。基于专用型近红外光谱仪, 以模式葡萄酒为研究对象, 确定该方法的线性范围。用该方法与数字密度计法同时测定 100 份葡萄酒样品, 进行方法比较。并进一步研究该方法对测定其他类型饮料酒酒精度的准确性, 包括发酵酒(果酒、清酒和黄酒)以及蒸馏酒(伏特加, 威士忌、白兰地、朗姆酒和白酒)。该方法实际数值显示范围为 0~28% vol, 在 0~20% vol 范围内结果较准确。与密度计法测定葡萄酒中酒精度比较, 经 t 检验($t_{0.05,4}=2.78$)和 F 检验($F_{0.05}(2,2)=19.0$), 两种方法结果一致, 没有显著性差异。与密度计法测定其他类型饮料酒中酒精度比较, 符合性判别结果也均一致。研究表明, 该方法操作简便、快速、重复性好, 既可满足葡萄酒的日常酒精度检测需求外, 还可应用于其他饮料酒样品。

关键词: 葡萄酒; 近红外光谱; 酒精度; 饮料酒; 密度计

文章编号: 1673-9078(2014)1-180-184

Rapid Test of Alcoholicity in Alcoholic Beverages by Near Infrared Spectroscopy

OU Chang-rong¹, TANG Hai-qing², YIN Ju-yi², CAO Jin-xuan¹, WU Wei-er², CHEN Mei-zhen², HE Wei-min²

(1. College of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

(2. Ningbo Exit-Entry Inspection and Quarantine Bureau Technical Center, Ningbo 315012, China)

Abstract: The rapid determination of alcoholicity content in alcoholic beverages by near infrared spectroscopy (NIR) method was studied. The alcoholicity of 100 wine samples was detected by NIR and digital density meter method and the linear measuring range of NIR method was determined. Furthermore, the accuracy of the alcoholicity in other types of alcoholic beverages, such as fermented alcoholic beverages (fruit wine, sake and Chinese rice wine) and distilled spirits (vodka, whisky, brandy, rum and Chinese spirits) were also investigated by using NIR. The results showed that the actual digital display measuring range was 0~28% vol, and the linear range was 0~20% vol. The alcoholicity in wine samples measured by two different methods showed a good correlation and there was no significant difference through t test ($t_{0.05,4}=2.78$) and F test ($F_{0.05}(2,2)=19.0$) at the level of $\alpha = 0.05$. The alcoholicity in other types of alcoholic beverages determined by the two methods was consistent in evaluation of conformity. NIR method verified in this study is easy and fast to operate and has good repeatability. It is appropriate for determining alcoholicity in wine samples, and other kinds of alcoholic beverages.

Key words: wines; near infrared spectroscopy; alcoholicity; alcoholic beverages; density meter

酒精度(或乙醇浓度)是饮料酒生产销售中主要的质量和技术指标之一,通常以 100 mL 饮料酒中含酒精(乙醇)的毫升数,即体积百分数表示^[1]。各类饮料酒的产品标准中均对酒精度(或乙醇浓度)的下限和/或上限有明确的要求,并规定测量结果与标签值的允许标准差为 ± 1.0 。常见的检测方法有密度瓶法、密度计法、数字式密度计法和气相色谱法等,检测前均需对饮料酒预先蒸馏,除去杂质后,再对酒精水溶液进行测定^[2]。整个检测过程耗时长、步骤多,不满足快速检测发展的需求。近年来,基于红外光谱法和酶法原理的酒精度检测方法越来越受到重视。尤其是前者,其检测过程不需额外试剂,与自动进样器连用即可实现快速、高通量、自动化的酒精度检测^[3-6]。

近红外光谱区波长范围为 780~2526 nm,主要包括 C-H、N-H、O-H、S-H 等含氢基团的分子内部振动的倍频与合频吸收带,酒中的醇、酸、醛等有机物在近红外区均可得到有效响应。据此原理,国内外学者利用通用型傅立叶变换红外光谱仪采集近红外光谱,结合理化检测数据,建立了黄酒、白酒和葡萄酒等多种饮料酒的酒精度定量分析模型^[7-8]。尽管上述技术方法有一定应用潜力,但前期响应值预测模型的建立,

近红外光谱区波长范围为 780~2526 nm,主要包括 C-H、N-H、O-H、S-H 等含氢基团的分子内部振动的倍频与合频吸收带,酒中的醇、酸、醛等有机物在近红外区均可得到有效响应。据此原理,国内外学者利用通用型傅立叶变换红外光谱仪采集近红外光谱,结合理化检测数据,建立了黄酒、白酒和葡萄酒等多种饮料酒的酒精度定量分析模型^[7-8]。尽管上述技术方法有一定应用潜力,但前期响应值预测模型的建立,

收稿日期: 2013-09-03

基金项目: 宁波市科技服务业示范项目(201201F1000032); 宁波市自然科学基金(2010A610014)

作者简介: 欧昌荣(1974-),男,博士,副教授,研究方向: 食品风味化学、食品加工新技术与安全检测

需要大量的样本、人工和数学统计过程,不具普遍适用性。因此,专用型的近红外光谱仪以其直接、快速的检测优势得到越来越多的关注,如酒精分析仪(Anton Paar公司)、葡萄酒分析仪(Foss公司)和快速酒精分析仪(Unisensor公司)等。本文使用基于近红外原理的葡萄酒酒精分析仪,对各种类型葡萄酒的酒精度进行测定,并进一步对其他发酵酒和蒸馏酒进行检测,与传统方法进行对比,考察该方法在酒精度检测中的实用性和可靠性,为此类方法的应用提供一定的理论和实践基础。

1 材料与方法

1.1 原料与仪器

1.1.1 原料

葡萄酒、清酒、黄酒、白酒、威士忌等饮料酒均购自宁波保税区进口葡萄酒市场及周边超市。试剂均为分析纯;实验用水均为超纯水。

1.1.2 主要仪器设备

MILLI-Q 超纯水器(美国 MILLI-PORE 公司);DMA 4500M 密度仪(奥地利 Anton Paar 公司);Alcolyzer Wine M 葡萄酒分析仪(奥地利 Anton Paar 公司);JULABO SW22 恒温水浴(德国优莱博公司);YQ-720 超声波清洗仪(上海声颜超声波仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 酒精度测定方法

1.2.1.1 数字式密度计法

用 100 mL 容量瓶准确量取样品(液温 20 °C),倒入 500 mL 蒸馏瓶中,用 50 mL 蒸馏水多次冲洗容量瓶,洗液全部并入蒸馏瓶中。加热蒸馏,用取样用的容量瓶收集馏出液,至约 100 mL 时停止蒸馏。20 °C 水浴恒温 30 min,定容,混匀后备用。用数字式密度计进行测定,得到酒精水溶液密度(g/cm^3),查相关标准附录转换为 20 °C 时酒精度数值(%vol)^[9-10]。

1.2.1.2 近红外法

将约 40 mL 样品倒入样品杯,放置于进样架。选择酒精度测量模式,进行检测。仪器自动导入试样,记录并保存酒精度结果(%vol)。如样液含有气泡,需进行脱气处理;浑浊样品需进行过滤处理。

1.2.2 近红外法检测葡萄酒

1.2.2.1 检测范围的确定

以模式酒(4 g/L 葡萄糖,5 g/L 酒石酸,0.5 g/L 焦亚硫酸钾,适量乙醇,pH 为 3.5)模拟葡萄酒基质

[11],其中准确添加无水乙醇,使合成酒的乙醇浓度分别为 0.01、0.10、0.25、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00、20.00、22.00、24.00、26.00、28.00 和 30.00%vol,用近红外法测定酒精度。每个样品重复测定 3 次。

1.2.2.2 不同类型葡萄酒的检测

选择 100 份葡萄酒样品,分别以近红外法和密度计法测定酒精度,比较检测结果。每个样品重复测定 3 次。

1.2.2.3 重复性实验

随机挑选干红葡萄酒和干白葡萄酒各一份,接近红外方法进行 10 次重复测定,计算相对标准偏差,考察其重复性。

1.2.3 近红外法检测其他饮料酒

选择若干发酵酒和蒸馏酒,分别以近红外法和数字式密度计法测定酒精度,比较结果。每个样品重复测定 3 次。

1.3 数据分析

采用 Origin 8.0 软件进行数据统计分析和作图。

2 结果与讨论

2.1 葡萄酒的检测

2.1.1 检测范围的确定

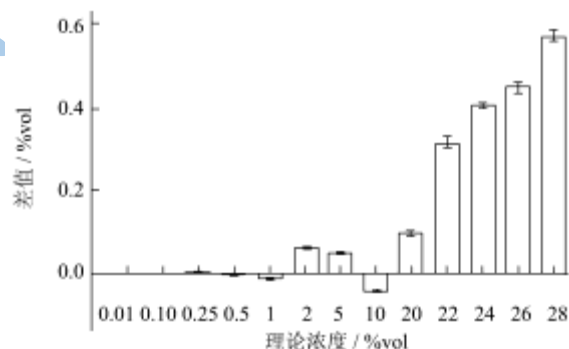


图 1 近红外法酒精度实测值与理论浓度的差值比较

Fig.1 Comparison between measured value and the theoretical concentration of alcoholicity using NIR method

在葡萄酒发酵过程中,酵母菌将糖分代谢产生酒精和二氧化碳,因此葡萄酒的酒精度主要由原料的含糖量和酵母的耐受能力决定,通常在 7.0~15.0%vol 之间^[12]。少数葡萄酒的酒精度在此范围之外,如无醇葡萄酒(0.5~1.0%vol),低醇葡萄酒(1.0~7.0%vol)及利口葡萄酒(15.0~22.0%vol)等^[13]。以乙醇浓度 0.01~30.00%vol 的合成葡萄酒为测试对象,考察近红外法检测结果的准确性(图 1)。在 0.01~20%vol 范围内,实测值基本符合理论浓度且线性良好;在

20~28% vol 范围内, 实测值偏大, 与理论浓度的差值超过 0.3% vol, 可能影响检测结果的合格判定; 当酒精度>30% vol 时, 超出仪器显示范围。可见, 本方法所用仪器的有效量程为 0~20% vol, 与仪器建议量程相符, 能够响应绝大多数葡萄酒样品的检测要求。

2.1.2 不同类型葡萄酒的检测结果比对

葡萄酒的成分复杂、类型多样, 成品中糖、酸、醇、醛、酮、酯、酚类化合物等物质的种类和浓度各不相同。分别使用近红外法和数字式密度计法测定不同类型的葡萄酒样品的酒精度, 并以 F 检验和 t 检验比较方法的精密度和结果一致性。设显著性水平 α 为

0.05, 查临界值表^[14]得到 $F_{0.05}(2,2)=19.0$, $t_{0.05,4}=2.78$ 。经过测定和计算, 多数样品比对结果的 F 值小于 19.0、t 值小于 2.78, 部分典型样品结果见表 1。可见, 对于大部分葡萄酒样品的酒精度测定, 近红外法与密度计法属于等精度测量, 两种方法结果一致、没有显著性差异。且葡萄酒中的糖、花色苷和单宁等主要成分的差异对检测结果没有明显的影响, 检测过程中不需根据不同的葡萄酒类型分别定标, 说明该方法对复杂的葡萄酒样品具有良好的适用性。另外, 近红外法的检测时间和样品量也远远低于密度计法。

表 1 近红外法与密度计法测定葡萄酒中酒精度的方法比对结果

Table 1 Comparison between NIR method and digital density meter method in determination of alcoholicity in wine samples

样品	标签值 /%vol	密度计法结果/%vol				近红外法结果/%vol				F 值	t 值
		1	2	3	标准偏差	1	2	3	标准偏差		
红葡萄酒 (干型)	13	12.9	12.9	12.8	0.06	13.0	12.9	13.0	0.06	0.1	2.12
红葡萄酒 (半干)	12	12	12.1	11.9	0.10	12.1	12.2	12.1	0.06	3	2.00
红葡萄酒 (半甜)	12	11.6	11.6	11.7	0.06	11.7	11.7	11.8	0.06	1	2.12
红葡萄酒 (甜型)	11.5	11.8	11.8	11.7	0.06	11.8	11.8	11.9	0.06	1	1.41
桃红葡萄酒 (干型)	14.5	14.1	14.1	14	0.06	14.1	14.2	14.2	0.06	1	2.12
白葡萄酒 (干型)	11.5	11.9	11.8	11.9	0.06	11.9	11.8	11.9	0.06	1	0.00
贵腐葡萄酒	13	13.3	13.3	13.2	0.06	13.3	13.2	13.3	0.06	1	0.00
冰葡萄酒	8	7.8	7.8	7.7	0.06	7.8	7.9	7.8	0.06	1	1.41
无醇葡萄酒	/	0.1	0.1	0.1	1.7×10^{-17}	0.2	0.2	0.2	3.4×10^{-17}	0.25	/
起泡葡萄酒	8	7.1	7.1	7	0.06	7.2	7.2	7.1	0.06	1	2.12
利口葡萄酒	16	16.1	16.1	16	0.06	16	15.9	16	0.06	1	2.12

2.1.3 方法的重复性

选择日常检测中常见的干红和干白葡萄酒各一

份, 连续测量 10 次后计算相对标准偏差 (表 2)。

表 2 近红外法对葡萄酒中酒精度的重复性测定结果

Table 2 Results of repeatability of alcoholicity in wine samples determined by NIR method

样品	酒精度/%vol										平均值 /%vol	相对标准偏差 RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
干红葡萄酒	12.71	12.71	12.72	12.71	12.72	12.70	12.71	12.72	12.71	12.71	12.71	0.05
干白葡萄酒	11.35	11.35	11.35	11.35	11.36	11.35	11.37	11.36	11.35	11.35	11.35	0.06

2.2 其他类型饮料酒的检测

2.2.1 发酵酒酒精度的检测

本方法所用仪器的设计适用对象包括葡萄酒、清酒和苹果酒。而日常检测中常见的发酵酒及其配制酒, 还包括各种黄酒和果酒等样品, 选择多种样品进行酒精度测定, 进一步考察仪器性能。由表 3 可知, 对于所选发酵酒样品, 近红外法与密度计法的符合性判定结果一致。

2.2.2 蒸馏酒酒精度的检测

蒸馏酒的酒精度一般在 20% vol 以上, 超出本方法使用仪器的检测范围, 原则上应选择适合量程的其他同类仪器直接测定。本文中尝试对稀释后的蒸馏酒进行测定, 以拓展该方法用途。以威士忌样品为例, 稀释后测定酒精度并绘制标准曲线 (图 2)。可见, 稀释后样品的近红外测定结果具有良好的线性。在此基础上, 对其他蒸馏酒样品进行适当比例稀释后测定, 并与密度计法结果进行比较。由表 4 可知, 对于所选蒸馏酒样品, 近红外法与密度计法的符合性判定结果一致。

表3 近红外法与密度计法测定发酵酒中酒精度的方法对比结果

Table 3 Results of comparison between NIR method and digital density meter method in determination of alcoholicity in fermented alcoholic beverages

样品	标签值 /%vol	酒精度/%vol	
		密度计法	近红外法
苹果酒	4.5	4.6±0.1	4.6±0.1
蓝莓酒	8	7.9±0.1	8.0±0.1
红莓酒	11	11.2±0.1	11.1±0.1
清酒 1	15~16	15.0±0.1	15.3±0.1
清酒 2	15	15.0±0.1	15.5±0.1
清酒 3	14	14.0±0.2	14.3±0.1
黄酒 1	12	12.0±0.1	12.1±0.1
黄酒 2	≥15.5	16.3±0.1	16.9±0.1

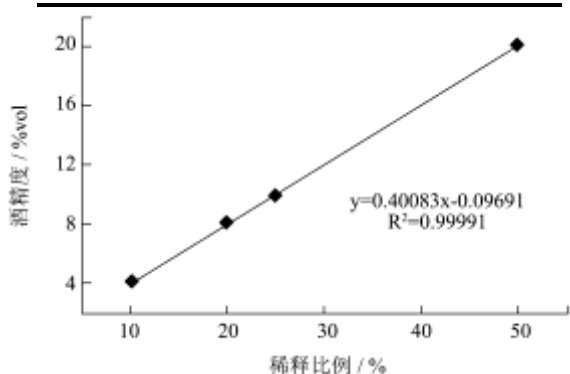


图2 稀释威士忌样品的酒精度标准曲线

Fig.2 Standard curve of alcoholicity in diluted whisky samples

表5 近红外法与密度计法判别酒精度不合格样品的比较

Table 4 Comparison between NIR method and digital density meter method to discriminate unqualified samples

样品	标签值 /%	酒精度/%vol		上下限 /%vol	合格范围 /%vol
		密度计法	近红外法		
干红葡萄酒 F1	15	13.7±0.1	13.9±0.1	≥7.0	14~16
干红葡萄酒 F2	15	13.8±0.1	13.9±0.1	≥7.0	14~16
干红葡萄酒 F3	14.9	13.5±0.1	13.8±0.1	≥7.0	13.9~15.9
干红葡萄酒 F4	14.9	13.6±0.1	13.8±0.1	≥7.0	13.9~15.9
甜白葡萄酒 F1	12.5	10.9±0.2	11.1±0.1	≥7.0	11.5~13.5
白兰地 F1	40	42.7±0.1	41.5±0.1	≥36.0	39~41
白酒 F1	45	39.0±0.1	38.6±0.1	41~68	44~46
白酒 F2	52	44.0±0.1	43.1±0.1	41~68	51~53
黄酒 F1	12	9.8±0.2	10.1±0.1	≥8.0	11~13

3 结论

近年来, 专用型近红外光谱仪在食品行业领域尤其是乳品、油脂和饮料及饮料酒的品质分析和检测方面, 有很大的发展空间。本文所用近红外酒精分析方法与通用型近红外法以及常规密度计法相比, 具有以下特点: 1) 不需用大批量的样本建立定量分析模型;

表4 近红外法与密度计法测定蒸馏酒中酒精度的方法对比结果

Table 4 Comparison between NIR method and digital density meter method in determination of alcoholicity in distilled spirits

样品	标签值 /%vol	酒精度/%vol	
		密度计法	近红外法
威士忌	40	40.0±0.1	40.0±0.2
白兰地	40	40.1±0.1	40.0±0.1
伏特加	37.5	37.4±0.1	37.6±0.1
朗姆酒	35	35.0±0.1	35.0±0.1
白酒 1	42	42.1±0.1	42.2±0.1
白酒 2	38	39.0±0.1	38.6±0.1

2.3 不合格样品的判断

GB 15037《葡萄酒》中规定葡萄酒的酒精度必须≥7.0%vol, 且标签标示值与实测值不得超过±1.0%vol。其他饮料酒产品标准中对酒精度也有相应要求, 除规定上下限外, 同时要求标签值与实测值的允许标准差在±1.0%vol内。从前面的实验结果中已知, 近红外法和密度计法对合格样品的判断结果一致。另选择由密度计法判断为不合格的样品, 使用近红外法进行复测, 比较两种方法对不合格样品判别结果的一致性(表5)。可见, 近红外法与密度计法对不合格样品的判别一致, 测定值均落在标签值±1.0%vol之外。

2) 基本不需要分析试剂和标准品; 3) 无需蒸馏等前处理或定标操作, 检测时间<2 min; 4) 样品量少, 一次测定约为传统蒸馏方法使用量的 1/10; 5) 对酒精度低的样品, 如低醇和脱醇葡萄酒有良好的检测效果。通过进一步验证, 该方法在 0~20%vol 范围内检测结果准确。对于采集的多种类型的葡萄酒样品, 经 t 检验 (<2.78) 和 F 检验 (<19.0), 该方法与密度计法的

方法比对结果均符合要求,且干红和干白样品重复性的RSD值均 $<0.1\%$ 。对其他发酵酒和蒸馏酒样品进行测定,特别是蒸馏酒,经适当稀释2~3倍后,测定结果接近密度计法,对产品的符合性判别结果也与密度计法一致。综上所述,该方法具有简单、快速、高通量、成本低、重复性好等优点,测量结果与国标法测定值接近,并能够准确判别合格和不合格样品,适用于饮料酒特别是葡萄酒酒精度的快速筛选检测。

参考文献

- [1] 程铁轵,刘彬,李明春,等.欧盟、美国和日本酒类标签技术贸易措施对我国酒类产品出口的启示[J].现代食品科技,2013,29(1):207-210
CHENG Tie-yuan, LIU Bing, LI Ming-chun, et al. Influence of Technical Trade Measures of Label of EU, USA and Japan on Chinese Alcoholic Products Export [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(1): 207-210
- [2] GB/T 15038-2008,葡萄酒、果酒通用分析方法[S]
- [3] Zanon J P, Peres M F, Gattás E A. Colorimetric assay of ethanol using alcohol dehydrogenase from dry baker's yeast [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 40(3): 466-470
- [4] Lachenmeier D W, Godelmann R, Steiner M, et al. Rapid and mobile determination of alcoholic strength in wine, beer and spirits using a flow-through infrared sensor [J]. Chemistry Central Journal, 2010, 4: 5-15
- [5] Castritius S, Kron A, Schäfer T, et al. Determination of Alcohol and Extract Concentration in Beer Samples Using a Combined Method of Near-Infrared (NIR) Spectroscopy and Refractometry [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2010, 58(24): 12634-12641
- [6] Ashok P C, Praveen B B, Dholakia K. Near infrared spectroscopic analysis of single malt Scotch whisky on an optofluidic chip [J]. Optics Express, 2011, 19(23): 22982-22992
- [7] 胡小邦,吕进,刘辉军,等.基于近红外透射光谱的黄酒酒精度、酸度检测模型研究[J].光电工程,2010,37(10):122-127
Hu Xiao-bang, LV Jing, LIU Hui-jun, et al. Quantitative Model of Alcohol and Acid in Chinese Rice Wine Based on Near-infrared Transmission Spectroscopy [J]. Opto-Electronic Engineering, 2010, 37(10): 122-127
- [8] 王豪,郭蓓蕾,林振兴,等.傅立叶变换近红外光谱法快速测定葡萄酒中的酒精度[J].中国酿造,2008,7(184):72-74
WANG Hao, WU Bei-lei, LIN Zhen-xing, et al. Rapid Determination of Alcohol Content in Wine by FT-NIR Spectroscopy [J]. China Brewing, 2008, 7(184): 72-74
- [9] GB/T 13662-2008,黄酒[S]
- [10] GB/T 11856-2008,白兰地[S]
- [11] Ancín-Azpilicueta C, Garde-Cerdán T, Torrea D, et al. Extraction of volatile compounds in model wine from different oak woods: effect of SO₂ [J]. Food Research International, 2004, 37(4): 375-383
- [12] Jackson R S. Wine science: Principles and applications [M]. New York: Academic press, 2008
- [13] GB 15037-2008,葡萄酒[S]
- [14] 王承忠,朱海根.实验室质量体系运行中的技术难点及解决方法-方法确认、人员或方法比对的判定[J].物理测试,2011, S1:87-99
WANG Cheng-zhong, ZHU Hai-gen. The Difficulties of Technology and Solvent Method of the Laboratory's Quality System the Determinant for Method Validation, Personnel and Method Comparison [J]. Physics Examination and Testing, 2011, S1: 87-99