

T B

团 体 标 准

T/ NAIA×××- ××××

葡萄汁中 pH 值、总酸、还原糖及二氧化硫
的测定

2022-××-××发布

2022-××-××实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前 言

本标准按照 GB/T1.1-2020 给出的规则起草。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监管重点实验室（枸杞和葡萄酒质量安全））、宁夏恒生西夏王酒业有限公司、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：朱捷、何微、党祎苗、张学玲、王小峰、安荣艳、吕毅、吴明、张小飞。本文件为首次发布。

葡萄汁中 pH 值、总酸、还原糖及二氧化硫的测定

1 范围

本文件规定了葡萄汁中 pH 值、总酸、还原糖及二氧化硫的测定。

本文件适用于葡萄汁中 pH 值、总酸、还原糖及二氧化硫含量的测定和确证。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 pH 的测定

4.1 原理

测量浸没于样品中的两个电极之间的电势差。其中一个电极的电势为溶液 pH 的函数，而另一个电极具有已知的固定电势，作为参比电极使用。

4.2 试剂

除另有说明，所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.2.1 酒石酸氢钾的饱和溶液：20℃下每升溶液中含有至少 5.7g 酒石酸氢钾（ $C_4H_5KO_6$ ）。（溶液每 200mL 加入 0.1g 百里酚，最长能保存两个月。）

pH、温度：

20℃时为 3.57；

25℃时为 3.56；

30℃时为 3.55；

或使用 SI（国际单位制）标识的商用缓冲溶液。

4.2.2 邻苯二甲酸氢钾溶液 0.05mol/L: 将邻苯二甲酸氢钾于 110℃~130℃干燥至恒重,并于干燥器内冷却至室温。称取邻苯二甲酸氢钾 10.211g(精确到 0.001g),加入 800mL 水溶解,用水定容至 1000mL。(最长能保存两个月)

pH、温度:

15℃时为 3.999;

20℃时为 4.003;

25℃时为 4.008;

30℃时为 4.015;

或使用 SI(国际单位制)标识的商用缓冲溶液。

4.2.3 磷酸盐缓冲液: 将无水磷酸二氢钾和无水磷酸氢二钠于 110℃~130℃干燥至恒重,并于干燥器内冷却至室温。称取称取上述磷酸二氢钾 3.402g(精确到 0.001g)和磷酸氢二钠 3.549g(精确到 0.001g),溶于水中,用水定容至 1000mL。(最长能保存两个月)

pH、温度:

15℃时为 6.90;

20℃时为 6.88;

25℃时为 6.86;

30℃时为 6.85;

或使用 SI(国际单位制)标识的商用缓冲溶液。

4.3 设备

4.3.1 校正过的精确到 0.01 单位的 pH 计。仪器应有温度补偿系统,若无温度补偿系统,应在 20℃以下使用,并能防止外界感应电流的影响。

4.3.2 玻璃电极。

4.3.3 甘汞-饱和氯化钾参比电极。

4.3.4 也可使用复合电极:由玻璃指示电极和 Ag/AgCl 或 Hg/Hg₂Cl₂ 参比电极组装而成。

4.3.5 磁力搅拌器。

4.4 分析步骤

4.4.1 取样

葡萄经压榨后入罐,发酵前使用专用取样器每罐直接取样。

4.4.2 pH计的校准

用两个已知精确 pH 的缓冲溶液（尽可能接近待测溶液的 pH），在测定温度下用磁力搅拌的同时校正 pH 计。若 pH 计不带温度补偿系统，应保证缓冲溶液的温度在 $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 范围内。

4.4.3 测量

将电极直接浸入要测量的样品中，样品温度应该在 20°C - 25°C 之间，尽可能接近 20°C 。读数显示稳定后，直接读出 pH 值，准确至 0.01。每个样品至少平行测定两次。最后的结果取两次测量的平均值。

5 总酸的测定

5.1 原理

利用酸碱中和原理，用氢氧化钠标准滴定溶液将葡萄汁的 pH 滴定至 7 时或用指示剂溴百里酚蓝指示终点与滴定终点标准颜色进行比较，根据碱的用量计算总酸的含量。

5.2 试剂

除另有说明，所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.2.1 氢氧化钠标准滴定液 $[\text{c}(\text{NaOH})=0.1\text{mol/L}]$ ：按 GB/T 601 配置与标定，并准确稀释。

5.2.2 溴百里酚蓝指示剂溶液 $[4\text{g/L}]$ ：称取溴百里酚蓝 4g，加入 96%（V/V）中性乙醇 200mL，待溶解后再加入不含 CO_2 的蒸馏水 200mL，加入 1mol/L 氢氧化钠溶液 7.5mL，充分至呈蓝绿色（pH7.0），加水至 1000mL。

5.2.3 pH 为 7.0 的缓冲溶液：准确称取磷酸二氢钾（ KH_2PO_4 ）107.3g，加入 1mol/L 氢氧化钠溶液 500mL，加水至 1000mL。（也可使用市售已配置好的 pH 为 7.0 的缓冲溶液）

5.3 设备

自动电位滴定仪或酸度计：精度 0.01pH。

5.4 步骤

5.4.1 取样

葡萄经压榨后入罐，发酵前使用专用取样器每罐直接取样。

5.4.2 电位滴定法

5.4.2.1 pH 计的校准：按 pH 计使用说明书校准，使用 20°C pH 为 7.0 的缓冲溶液在 20°C 下

校准 pH 计。

5.4.2.2 测定方法：取 10mL 样品置入在一个烧杯中，加入约 10mL 蒸馏水，用 0.1mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定，直至 20℃时 pH 为 7.0。滴加氢氧化钠溶液的速度要慢，同时应不断地搅拌，记录滴加的氢氧化钠标准滴定液的体积 V mL。

5.4.3 指示剂法

5.4.3.1 预备实验：烧杯中加入 25 mL 煮沸的蒸馏水、1mL 溴百里酚蓝溶液和制备好的样品。滴加 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液，直到颜色变为蓝绿色，然后添加 5mL pH7.0 的缓冲溶液。

5.4.3.2 定量：在烧杯中加入 30 mL 煮沸的蒸馏水、1mL 溴百里酚兰溶液和 10mL 样品。滴加 0.1mol/L 氢氧化钠标准溶液，直到颜色变为蓝绿色，与 5.4.2.1 预备试验所出现的颜色相同。记下滴加的 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液的体积 V mL。

5.5 结果计算

样品中总酸的含量按式(1)-式(3)计算。

以毫摩尔表示总酸的浓度 (mmol/L)，结果保留一位小数：

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{10.0} \dots \dots \dots (1)$$

以酒石酸表示总酸的浓度 (g/L)，结果保留两位小数：

$$X = \frac{c \times V \times 75}{10.0} \dots \dots \dots (2)$$

以硫酸表示总酸的浓度 (g/L)，结果保留两位小数：

$$X = \frac{c \times V \times 49}{10.0} \dots \dots \dots (3)$$

式中：

X —样品中总酸的含量；

c —氢氧化钠标准滴定溶液的浓度，单位为摩尔每升 (mol/L)；

V —样品滴定时消耗的氢氧化钠标准滴定溶液的体积，单位为毫升 (mL)；

5.6 精密度

电位滴定法：在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 3%。

指示剂法：在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 5%。

6 还原糖的测定

6.1 原理

用中性醋酸铅或亚铁氰化锌将葡萄汁进行澄清处理后，在碱性溶液中与铜盐溶液的还原作用进行还原糖的测定。

6.2 试剂

除另有说明，所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

6.2.1 中性醋酸铅溶液（近饱和）：称取中性醋酸铅 $[\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ 250g，加沸水至 500mL，搅拌直至完全溶解。

6.2.2 碳酸钙

6.2.3 亚铁氰化钾溶液：称取亚铁氰化钾 $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ 150g，加水溶解至 1000mL。

6.3.3 硫酸锌溶液：称取硫酸锌 $[\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}]$ 300g，加水溶解至 1000mL。

6.3.4 碱性铜盐溶液：分别称取纯硫酸铜 $[\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$ 25g 溶于 100mL 水中、一水合柠檬酸 50g 溶于 300mL 水中、结晶碳酸钠 $[\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}]$ 388g 溶于 300mL~400mL 热水中，先将柠檬酸溶液与碳酸钠溶液混合再与硫酸铜溶液混合，加水至 1L。

6.3.5 30%(m/V)碘化钾溶液：称取碘化钾(KI)30g，加水溶解至 100mL。保存于深色玻璃瓶中。

6.3.6 25%(m/V)硫酸溶液：浓硫酸(H_2SO_4)1.84g/mL 25g，将硫酸缓慢倒入水中，待其冷却，再加水至 100mL。

6.3.7 淀粉溶液（5g/L）：将 5g 淀粉加入到约 500mL 水中，加热至沸腾，同时搅拌，保持沸腾 10min，加入 200g 氯化钠，冷却后，加水至 1L。

6.3.8 硫代硫酸钠溶液：0.1mol/L

6.3 步骤

6.3.1 取样

葡萄经压榨后入罐，发酵前使用专用取样器每罐直接取样。

6.3.2 澄清：葡萄汁试样按 10%（V/V）稀释，取 10mL 稀释液置于 100mL 的容量瓶中，加入 0.5g 碳酸钙，约 60mL 水，0.5mL、1mL 或 2mL 的饱和醋酸铅溶液，振摇多次后静置至少 15min，期间再振摇几次，加水至刻度线后过滤，也可使用亚铁氰化锌法进行澄清，在 100mL

的容量瓶中，加入 5mL 亚铁氰化钾溶液和 5mL 硫酸锌溶液，混合后加水至刻度，过滤。1mL 滤液相当于 0.01mL 葡萄汁。

6.3.3 还原糖的测定: 在 300mL 锥形瓶中加入 25mL 碱性铜盐溶液，15mL 水和 10mL 样品澄清液，加入若干粒沸石，在锥形瓶上装一个回流冷凝器，在 2min 内使锥形瓶中溶液沸腾，并且保持沸腾 10min，将锥形瓶立即在流动冷水下进行冷却，待完全冷却后，加入 10mL 30%(m/V)碘化钾溶液、25mL 25%(m/V)硫酸溶液和 2mL 淀粉溶液。用 0.1mol/L 硫代硫酸钠溶液进行滴定，记录消耗硫代硫酸钠溶液的体积 n (mL)，同时用 10mL 蒸馏水代替样品澄清液进行空白试验，记录消耗硫代硫酸钠溶液的体积 n' (mL)。

6.4 结果计算

根据表 1 中试样消耗的硫代硫酸钠溶液的体积数 ($n-n'$) mL 所对应的试样中还原糖的含量。

表 1 硫代硫酸钠溶液的体积数 ($n-n'$) mL 与还原糖质量 (mg) 之间关系表

硫代硫酸钠溶液的体 积数 ($n-n'$) /mL	还原糖/mg	硫代硫酸钠溶液的体 积数 ($n-n'$) /mL	还原糖/mg
1	2.4	13	33.0
2	4.8	14	35.7
3	7.2	15	38.5
4	9.7	16	41.3
5	12.2	17	44.2
6	14.7	18	47.2
7	17.2	19	50.0
8	19.8	20	53.0
9	22.4	21	56.0
10	25.0	22	59.1
11	27.6	23	62.2
12	30.3		

样品中还原糖的含量以转化糖的浓度 (g/L) 表示，保留一位小数，按式(4)计算。

$$X = \frac{m}{10 \times 10/100} \cdot F \dots \dots \dots (4)$$

式中：

X —样品中还原糖的含量（g/L）；

m —与硫代硫酸钠溶液的体积数（ $n-n'$ ）/mL 对应的还原糖的质量（mg）；

F —样品稀释倍数 10；

6.5 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 2%。

7 二氧化硫的测定

7.1 原理

加热状态下（约 100℃），样品中通入空气或氮气把二氧化硫带出，再通过中性过氧化氢的稀溶液中，二氧化硫被氧化固定下来。用氢氧化钠标准溶液滴定生成的硫酸即可得到总二氧化硫的含量。

7.2 试剂

除另有说明，所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

7.2.1 磷酸溶液（25%）：量取 295mL85%磷酸，用水稀释至 1000mL。

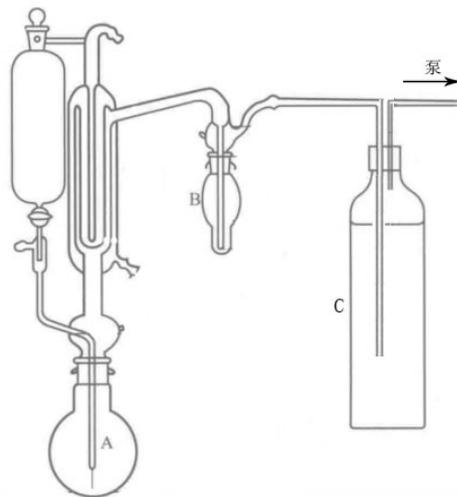
7.2.2 过氧化氢溶液（0.3%）：吸取 1mL30%过氧化氢，用水稀释至 100mL。使用当天配。

7.2.3 0.01mol/L 氢氧化钠滴定液。

7.2.4 甲基红-次甲基蓝混合指示液：按 GB/T 603 配制。

7.3 设备

二氧化硫测定装置见图 1。



A 短颈球瓶
B 梨形瓶
C 气体洗涤器

图 1 二氧化硫测定装置

7.4 步骤

7.4.1 取样：葡萄经压榨后入罐，发酵前使用专用取样器每罐直接取样。

7.4.2 向装置的短颈球瓶 A 中加入 50mL 葡萄汁和 5mL 25% 磷酸溶液，在梨形瓶 B 中加入 20mL 过氧化氢溶液，在气体洗涤器 C 中加入 5mL 过氧化氢溶液，各加三滴混合指示剂后，溶液立即变为紫色，滴入氢氧化钠标准溶液，中和过氧化氢，使溶液恰好为橄榄绿色，安装好装置。

7.4.3 使用高度为 4-5cm 的小火直接加热短颈球瓶，使瓶中的样品沸腾，瓶底不要放置金属丝网，要放置在中间有直径 30mm 空心的圆盘上或其他加热装置上，防止沉积在瓶壁上的提取物过度受热焦化。

7.4.4 在沸腾状态下通空气（或氮气）15min，总二氧化硫被带出并被氧化为硫酸，用 0.01mol/L 氢氧化钠滴定液滴定生成的酸，记录消耗的氢氧化钠的体积 n (mL)。一般情况下 C 瓶中的溶液不应变色，如果溶液变为紫色，也需要用氢氧化钠滴定液滴定至橄榄绿色，并将所消耗的氢氧化钠滴定液的体积与 B 瓶消耗氢氧化钠滴定液的体积相加。

7.5 结果计算

消耗的 0.01mol/L 氢氧化钠滴定液的体积为 n (mL)，则总二氧化硫的含量为 $6.4n$ (mg/L)。

7.6 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 10%。
