

叶绿体清除白葡萄酒中二氧化硫效果研究

黄国平, 刘岩, 陈黎斌 (广东食品药品职业学院, 广东广州 510520)

摘要 [目的] 研究从菠菜中提取的叶绿体应用于脱除白葡萄酒中二氧化硫的效果。[方法] 从菠菜中提取叶绿体, 并采用单因素试验和响应面分析法确定其用于白葡萄酒中二氧化硫的优化反应条件。[结果] 试验得出, 在 pH 为 6.28、反应时间 5 h、叶绿体浓度为 450 mg/kg 条件下, 对一般白葡萄酒中二氧化硫的脱除率可达到 99% 以上。[结论] 研究可为白葡萄酒中残留二氧化硫的清除提供一定的方法依据。

关键词 叶绿体; 脱除; 二氧化硫; 响应面分析

中图分类号 S375; TS619.8 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)02-00804-03

Study on Effect of Removing Sulfur Dioxide with Chloroplast from White Wine

HUANG Guo-ping et al (Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou, Guangdong 510520)

Abstract [Objective] To study effect of removing sulfur dioxide with chloroplast from white wine. [Method] Extracting chloroplast from spinach, single factor experiment and response surface analysis method were adopted to obtain the optimal reaction conditions for removing sulfur dioxide from white wine. [Result] Under the conditions of pH 6.28, reaction time 5 h, chloroplast concentration 450 mg/kg, the removing rate of sulfur dioxide from general white wine could reach above 99%. [Conclusion] The study provides a basis for removing sulfur dioxide from white wine.

Key words Chloroplast; Removal; Sulfur dioxide; Response surface analysis

很多食品在发酵过程中会自然产生二氧化硫(SO₂), 如葡萄酒和果酒类。葡萄酒在没有外来添加任何亚硫酸盐添加剂的情况下, 通过发酵过程自然产生的亚硫酸盐含量最高可达到 300 mg/L, 即使在一般情况下也会达到 40 mg/L。而这一数值超出了美国 FDA 规定的食品中亚硫酸盐含量的安全范围 10 mg/L 的指标要求。

从植物叶片中提取的叶绿体, 作为一种生物催化剂, 在一定条件下通过代谢途径对低浓度的亚硫酸盐溶液具有良好的氧化并脱除的效果^[1-2]。Sung-Chry Lin 报道了从麦草中提取的叶绿体用来催化葡萄酒中亚硫酸盐的氧化以及脱除 SO₂ 的应用实例, 采用 1 mg/ml 浓度的叶绿体, 在 pH 8.5 条件下, 45 min 内可以去掉红葡萄酒中 93% 亚硫酸盐^[3]。但该试验采用的 pH 条件对葡萄酒的风味产生重大影响, 不适合于在工业上应用, 白葡萄酒中由于工艺上要求添加亚硫酸盐, 因此白葡萄酒中二氧化硫残留量更容易超标。笔者利用从菠菜中提取的叶绿体, 研究其脱除白葡萄酒中二氧化硫残留的效果。

1 材料与方法

1.1 材料 新鲜菠菜, 当地农贸市场购得。白葡萄酒, 市售某品牌国产白葡萄酒, 酒精度 11.5%, 实测 SO₂ 含量 49.2 mg/kg。亚硫酸氢钠、抗坏血酸、EDTA、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、柠檬酸、氯化钠、三羟甲基氨基甲烷、浓盐酸、牛血清白蛋白、β-巯基乙醇、蔗糖、盐酸副玫瑰苯胺、氨基苯磺酸铵、甲醛、高氯酸钠、重铬酸钾, 均为分析纯。TU-190 型紫外-可见分光光度计, 北京普析; CS150GXL 型高速冷冻离心机, 日本日立; ALPHA1-4 型真空冷冻干燥机, CHRiST 等; SHA-C 水浴恒温振荡器, 江苏金坛宏华仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 叶绿体的制备。 从菠菜叶中提取叶绿体, 方法参见文献^[2]。

1.2.2 二氧化硫含量测定。 按照国标中盐酸副玫瑰苯胺法^[4]进行测定。

1.2.3 叶绿体催化脱除白葡萄酒中残留 SO₂ 试验。 试验中用 0.4 mol/L 的 NaH₂PO₄ 和 1 mol/L 的 NaOH 共同调节酒的 pH, 用 NaHSO₃ 调节反应酒样中初始有效 SO₂ 含量, 用无水乙醇调节酒样中酒精度。分别考察叶绿体在不同 pH(4~9)、反应时间(1~6 h)、叶绿体使用量(10~1 000 mg/kg)、温度(10~40 ℃)、酒精度(0%~60%)等条件下脱除白葡萄酒中 SO₂ 的效果。反应在 25 ℃ 摇床均匀缓慢振荡(100 n/min)条件下进行, 并用 200 W 日光灯距摇床 60 cm 照射模拟太阳光。反应结束后测定反应液 SO₂ 残留量, 并计算脱除率。

1.2.4 响应面分析试验。 根据单因素试验所得结果, 选取对叶绿体脱除白葡萄酒中 SO₂ 影响较大的因素进行响应面分析, 应用 Design Expert 软件设计响应面试样方案, 建立数学回归模型, 对反应条件进行优化, 同时反映不同因素间的交互影响。

2 结果与分析

2.1 pH 对叶绿体脱除白葡萄酒中的 SO₂ 残留的影响 取叶绿体浓度 50 mg/kg, 反应酒样中初始有效 SO₂ 含量为 250 mg/kg, 酒精度为 9.5%, 光照、室温条件下均匀振荡反应 20 h。原酒(pH 为 3.4)在不同 pH 下, 叶绿体脱除白葡萄酒中的 SO₂ 的影响结果见图 1。

由图 1 可知, 在 pH 为 6.0~8.0 时, 叶绿体脱除 NaHSO₃ 中的 SO₂ 效率较高, 反应 20 h 可使 SO₂ 残留下降 90% 以上。

2.2 反应时间对叶绿体脱除白葡萄酒中的 SO₂ 残留的影响 由图 2 可知, 叶绿体脱除白酒中的 SO₂ 效率随时间反应变化而有所变化。反应 5 h 后, SO₂ 残留下降低了 98% 左右。

作者简介 黄国平(1967-), 男, 湖南桃源人, 副教授, 从事食品安全技术研究, E-mail: 170540989@qq.com。

收稿日期 2012-11-16

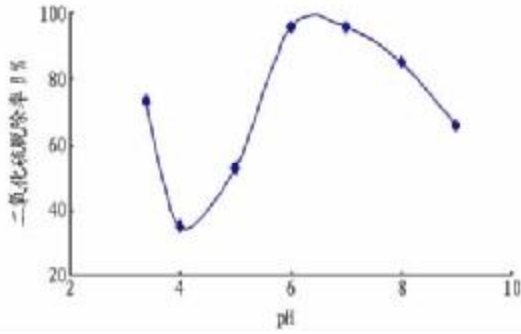


图1 pH对脱除白葡萄酒中的SO₂残留的影响

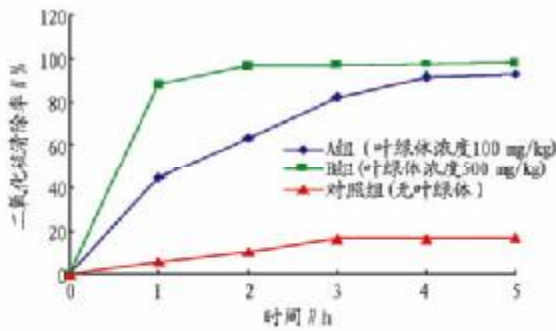


图2 反应时间对SO₂去除率的影响

2.3 叶绿体使用量对叶绿体脱除白葡萄酒中的SO₂残留的影响 由图3可知,当使用的叶绿体浓度为300 mg/kg时,基本完全去除白葡萄酒中SO₂。

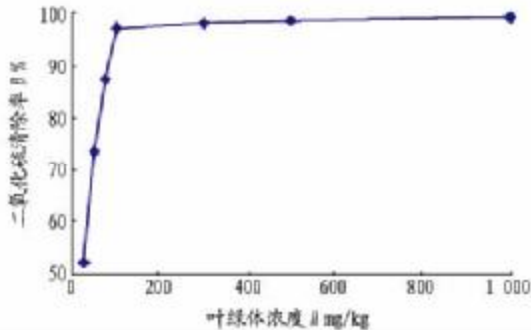


图3 叶绿体浓度对SO₂脱除的影响

2.4 温度对叶绿体脱除白葡萄酒中SO₂残留的影响 由图4可知,在10~30℃反应温度下,叶绿体脱除白葡萄酒中SO₂残留效果影响不大。

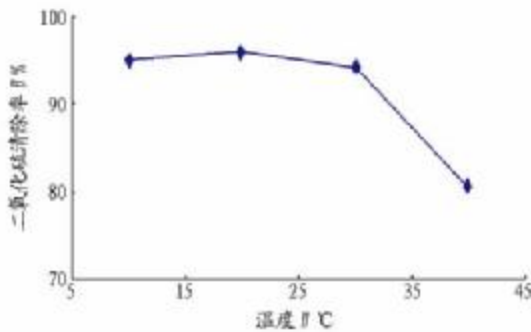


图4 温度对叶绿体脱除SO₂去除率的影响

2.5 酒精度对叶绿体脱除白葡萄酒中SO₂残留的影响 由图5可知,酒精度对叶绿体对白葡萄酒中SO₂的去除效果影响较大。当酒精度超过20%以后,叶绿体的作用效果显著下降。

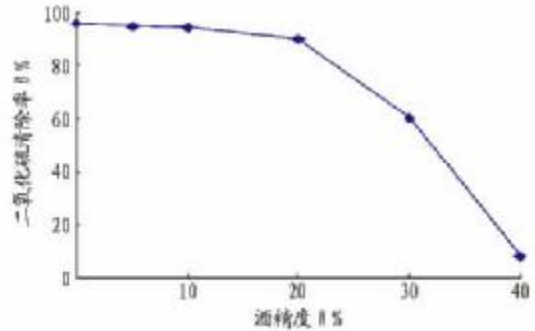


图5 酒精度对二氧化硫脱除的影响

2.6 响应面优化试验结果 根据单因素试验结果,脱除白葡萄酒中二氧化硫残留影响最大的3个因素为pH、反应时间、叶绿体浓度。针对这3因素进行3水平响应面优化分析试验,试验设计与结果见表1。

表1 响应面设计与试验结果

编号	因素			SO ₂ 清除率/%
	pH(A)	反应时间(B) min	叶绿体浓度(C) mg/kg	
1	7.5	300	150	82.5
2	7.5	120	450	73.9
3	5.5	300	450	93.8
4	5.5	120	150	41.4
5	5.1	210	300	53.5
6	7.9	210	300	72.4
7	6.5	82.7	300	80.5
8	6.5	337.3	300	94.2
9	6.5	210	87.9	62.5
10	6.5	210	512.2	91.6
11	6.5	210	300	85.3
12	6.5	210	300	84.6
13	6.5	210	300	83.5
14	6.5	210	300	84.8
15	6.5	165	300	84.1

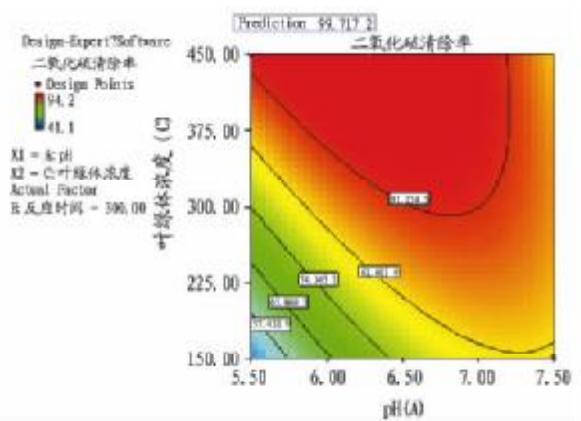


图6 pH-叶绿体浓度清除SO₂率等高线(反应时间为300 min)

以SO₂清除率为响应值,经回归拟合,由显著性分析结果可知,AC为显著性因子,AB、BC的交互作用不显著。剔除不显著因子,回归方程可简化为:

$$\text{二氧化硫清除率}(\%) = -576.82 + 165.08A - 0.0178B$$

$$+ 0.59C - 0.07AC - 10.43426A^2 + 2.24 \times 10^{-4}B^2 - 1.48 \times 10^{-4}C^2$$

式中, A 为 pH; B 为反应时间 (min); C 为叶绿体浓度 (mg/kg)。

试验的优化反应条件见等高线图 6。由图 6 可知, 白葡萄酒中脱除 SO_2 的最佳反应条件为: pH 为 6.28、反应时间为 300 min、叶绿体浓度为 450 mg/kg, 理论上 SO_2 清除率可达到 99.71%。经相同条件下的验证试验, 得到实际 SO_2 清除率为 99.97%, 相对误差为 0.26%。因此, 采用响应面法优化得到的条件参数准确可靠, 具有重要的应用价值。

3 结论

该试验制备的叶绿体, 在一定条件下具有脱除白葡萄酒

(上接第 799 页)

3 结论与讨论

该研究中, 重金属含量峰值出现在离开路基 10 ~ 35 m 处, 而不是在路基处。据研究^[1], 在汽车所排放的烟尘颗粒物中, $>9 \mu\text{m}$ 的颗粒迅速沉降在公路两侧, $1 \sim 9 \mu\text{m}$ 之间的颗粒在空中进行短距离扩散, 而 $<1 \mu\text{m}$ 的颗粒则能较长时间地停留在大气中, 迁移距离较远。 $>9 \mu\text{m}$ 的颗粒主要沉降在距公路 10 m 以内的区域, $<1 \mu\text{m}$ 的颗粒主要沉降在距路基 50 m 以外的区域, $10 \sim 50 \text{ m}$ 之间的区域则为 2 种颗粒物的混合沉降区域。另外, 汽车通过时, 公路表面的气流出现湍流, 不利于空气中的颗粒物沉降; 离开路基某一距离, 气流速度下降, 颗粒物沉降增多。不同重金属常常赋存在不同大小的颗粒物上, 因此不同重金属的含量峰值在路旁两侧出现的位置也有差异^[11]。

公路旁土壤中的 Pb 主要来自于燃料燃烧后排放的废气, Cd 主要来自汽车尾气 (占 62%) 和轮胎磨损 (占 38%), Zn 主要来自轮胎磨损 (占 98%)^[4-6]。该研究结果中, 大部分土壤样点在距路基 200 m 范围以内, 发生了轻度重金属污染, 主要是 Cd 污染所致。而小麦籽粒在所有样点均发生重度重金属污染, 则主要是 Pb 污染所致。

参考国际辐射防护委员会 (International Commission Radiological Protection, ICRP) 推荐的最大可接受风险水平 ($5.0 \times 10^{-5} \text{ a}^{-1}$)^[7], 致癌重金属 Cd 的个人健康年风险在距路基 50 m 范围内均超过了 ICRP 推荐标准, 存在较严重的健康风险, 最大风险值出现在距路基 10 m 处。各样点非致癌重金属 (Pb、Cu 和 Zn) 的个人风险均没有超过 ICRP 推荐标准, 不存在健康风险。个人健康总风险的大小主要受 Cd 的个人健康风险制约, 在距路基 50 m 范围内的样点也超过了 ICRP 推荐标准, 最大值也出现在距路基 10 m 处。在个人健康总风险中, 致癌重金属 Cd 的个人健康风险平均占总风险的 94.81%, 非致癌重金属的个人总风险仅占总风险的 5.19%, 因此 Cd 是最主要的健康危害重金属。

该研究表明, 各个土壤重金属的平均单项污染指数的大小顺序为 $\text{Cd} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Cr}$, Cd 发生轻度污染; 各样点小麦籽粒重金属的平均单项污染指数的大小顺序为 Pb

中 SO_2 残留的能力。通过单因素试验和响应面分析试验优化, 确定该试验的最佳条件为 pH 6.28、反应时间 5 h、添加的叶绿体浓度为 450 mg/kg, 在此条件下, 可脱除白葡萄酒中 99% 以上的 SO_2 残留。

参考文献

- [1] 黄国平. 食品中脱除二氧化硫方法研究进展[J]. 食品科技, 2007(12): 19-22.
- [2] 黄国平, 姚玉静, 陈黎斌. 叶绿体脱除亚硫酸盐效果研究[J]. 食品科学, 2010(4): 21-23.
- [3] SUNG-CHYR LIN, GEORGE G. A biocatalyst for the removal of sulfite from alcoholic beverages[J]. J. of Biotechnology and Bioengineering, 2005, 89(1): 123-127.
- [4] 卫生部. GB/T 5009.34-2003 食品中亚硫酸盐测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

$> \text{Cd} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Zn}$, 所有样点均发生 Pb 和 Cu 污染, Cd 和 Cr 污染样点分别占总样点数的 70% 和 30%, Zn 没有发生污染。而小麦籽粒通过膳食途径造成的健康风险大小顺序为 $\text{Cd} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Zn}$, Cd 的个人风险占总风险的 94.81%, 对人健康危害最为严重。显然, 这几种评价结果之间存在较大差别。如果 ICRP 推荐的健康风险度指标科学合理的话, 那么我国制定的某些土壤重金属评价标准及食品卫生限量标准可能存在欠妥之处。比较小麦籽粒重金属单项污染指数大小顺序和健康风险顺序后可以发现, 我国现行食品中 Pb 限量标准 (GB 2762-2005) 可能偏严格。当然, ICRP 推荐的健康风险度指标也在不断完善之中, 有待进一步研究。

参考文献

- [1] VAN BOHEMEN, VAN DE LAAK W H J. The influence of road infrastructure and traffic on soil, water, and air quality[J]. Environmental Management, 2003, 31(1): 50-68.
- [2] HOWARI F M, ABU-RUKAH Y P, GOODELL C. Heavy metal pollution of soils along North Shuna - Aqaba highway, Jordan [J]. International Journal of Environment and Pollution, 2004, 22(5): 597-607.
- [3] 马建华, 李剑, 宋博. 郑汴路不同运营路段路旁土壤重金属分布及污染分析[J]. 环境科学学报, 2007, 27(10): 1734-1743.
- [4] GUANG D S, PEART M R. Heavy metal concentrations in plants and soils at roadside locations and parks of urban Guangzhou [J]. Journal of Environmental Science, 2006, 18(3): 495-502.
- [5] NABULO G, ORYEMORIGA H, DIAMOND M. Assessment of lead, cadmium, and zinc contamination of roadside soils, surface films, and vegetables in Kampala City, Uganda [J]. Environmental Research, 2006, 101(1): 42-52.
- [6] LI F R, KANG L F, GAO X Q, et al. Traffic-related heavy metal accumulation in soils and plants in northwest China [J]. Soil and Sediment Contamination, 2007, 16(5): 473-484.
- [7] 高继军, 张立平, 黄圣彪, 等. 北京市饮用水源水重金属污染物健康风险的初步评价[J]. 环境科学, 2004, 25(2): 47-50.
- [8] 国家科学数据共享工程交通科学数据共享网. 2005 年公路线路里程 [DB/OL]. <http://202.106.166.38:8080/index.htm>. 2006-12-31/2008-06-20.
- [9] 中国环境监测总站, 南京市环境监测站. HJ/T 16-2004 土壤环境监测技术规范[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2005.
- [10] 国家环境监测总站. 中国土壤元素背景值[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 93-256.
- [11] SUTHERLAND R A, TOLOSA C A. Variation in total and extractable elements with distance from roads in an urban watershed, Honolulu, Hawaii [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2001, 127(1/4): 315-338.