

# 采用 ICP-MS 和 Mass Profiler Professional 软件测定储存温度和包装类型对葡萄酒中痕量金属成分的影响

## 应用简报

食品安全

### 作者

Helene Hopfer 和 Susan E. Ebeler  
葡萄栽培和酿酒系  
加州大学戴维斯分校  
美国

Jenny Nelson  
安捷伦科技公司  
5301 Stevens Creek Blvd.  
加利福尼亚州圣克拉拉市  
美国

### 摘要

本实验建立了一种采用 ICP-MS 测定葡萄酒中 20 多种痕量金属的方法，研究了包装以及储存条件对痕量金属成分的影响。实验发现 5 种痕量金属的检测限 (LOD) 介于 0.001 至 0.044  $\mu\text{g}/\text{L}$  之间，定量限 (LOQ) 介于 0.003 至 0.057  $\mu\text{g}/\text{L}$  之间，具体数据随包装和储存条件的不同会发生显著变化。葡萄酒中元素的含量随这两个变量而变化，其中包装类型（盒装式或带软木塞/螺旋盖的瓶装式）对金属成分的影响最大。



**Agilent Technologies**

## 前言

成品葡萄酒中的金属成分与葡萄以及葡萄栽培和葡萄酒酿造过程中引入的金属有关 [1]。目前多数研究关注于元素含量与葡萄酒产地之间的潜在关系。但在以往的研究中，葡萄园土壤中痕量元素分布与其所产葡萄酒酿造的葡萄酒之间的相关性较差，这说明，在葡萄酒生产和储存过程中元素组成发生了明显的改变 [2]。

此现象并不为奇，因为在葡萄酒制造过程中原料葡萄经常会与各种材料进行长时间的接触，比如不锈钢、橡木、玻璃等等。有研究表明，葡萄酒在玻璃瓶、橡木桶和不锈钢罐中储存时其稀土元素含量明显不同 [3]。遗憾的是，该作者并没有给出所用储存容器的进一步相关信息（例如，玻璃瓶的种类、桶和罐的来源和种类、清洗过程等等）。然而，这些结果说明可能存在由于储存容器所造成的葡萄酒中元素含量的变化。

通过这些发现，人们怀疑是否还有其他因素也会引起葡萄酒中痕量元素的变化。本应用简报将介绍葡萄酒包装材料和保存温度对于之前已发表红葡萄酒痕量元素分布的影响 [1]。实验采用 ICP-MS 分析方法测定了 20 多种痕量金属的含量。通过 Mass Profiler Professional 软件进行的统计学分析揭示了特定样品在不同包装和储存条件下痕量元素浓度的分布情况。研究发现储存温度对于痕量元素组成的影响小于包装材料类型，而采用螺旋盖保存葡萄酒会提高锡的含量。

## 实验部分

### 化学品和标准品

所有溶液均采用 Milli-Q 系统处理的去离子水 (电阻 >18 MΩ·cm) 制备。

化学品/标准品	来源
硝酸，超纯	赛默飞世尔科技公司
Claritas PPT 级内标混合液 1	SPEX CentriPrep
Claritas PPT 级多元素校准标准溶液 2A 和 3	SPEX CentriPrep
乙醇，200 proof	GoldShield

### 仪器

本研究采用了 Agilent 7700x ICP-MS，具体仪器参数如表 1 所列。

表 1. ICP-MS 仪器参数条件

RF 功率	1550 W
载气流速	1.03 L/min
雾化器流速	1.1 L/min
雾化器类型	MicroMist
取样深度	10 mm
雾化室温度	2 °C
OSR <sup>3</sup> 碰撞池载气流速 (He)	<sup>75</sup> As 和 <sup>78</sup> Se 分别为 4.3 mL/min 和 10 mL/min
监测和定量的同位素	<sup>51</sup> V, <sup>52</sup> Cr, <sup>55</sup> Mn, <sup>56</sup> Fe, <sup>57</sup> Fe, <sup>58</sup> Ni, <sup>59</sup> Co, <sup>60</sup> Ni, <sup>63</sup> Cu, <sup>66</sup> Zn, <sup>75</sup> As, <sup>78</sup> Se, <sup>111</sup> Cd, <sup>117</sup> Sn, <sup>118</sup> Sn, <sup>119</sup> Sn, <sup>120</sup> Sn, <sup>133</sup> Cs, <sup>205</sup> Tl, <sup>208</sup> Pb
质量数扫描/重复次数	100, 重复 3 次

## 样品

采用购买自加利福尼亚中海岸的 Cabernet Sauvignon（收获期为 2009 年）进行 12 种不同的处理。处理步骤包括 3 种储存温度（10 °C、20 °C 和 40 °C）和 4 种葡萄酒包装类型的所有组合：

1. 0.75 L 绿色玻璃瓶，配有天然软木塞（24 × 49 mm AC-1 级，ACI Cork, Fairfield, CA）
2. 0.75 L 绿色玻璃瓶，配有螺旋盖瓶塞，两种装填高度（Stelvin 铝质螺旋盖 30 × 60 mm, Federfin Tech S.R.L., Tromello, Italy, 带 28.6 × 2 mm 锡-聚偏二氯乙烯 (PVDC) 内衬, Oenoseal, Chazay, France）
3. 盒装酒（3 L DuraShield 34ES, Scholle 包装, Northlake, IL）

所有样品在整个保存过程中（6 个月）直立保存。实验设计如图 1 所示。

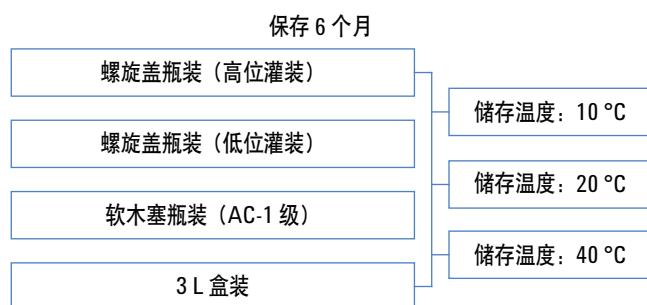


图 1. 实验设计

## 样品前处理

葡萄酒样品前处理如前文所述进行 [1]。采用 1% 硝酸按 1:3 进行稀释，将乙醇浓度降低至 4% 左右。葡萄酒直接从包装材料中进行取样，注意避免晃动瓶子，否则葡萄酒瓶塞会在晃动时接触到葡萄酒。

## 数据分析

实验采用安捷伦 MassHunter 软件采集质谱数据，由 Mass Profiler Professional 软件进行统计学分析，包括主成分分析 (PCA) 和热图 (heatmap) 分析。

## 结果与讨论

### 痕量元素的测定和定量

所有元素采用 5 个点的校准曲线进行定量，校准溶液进行基质匹配 (1% HNO<sub>3</sub> 和 4% 乙醇)，浓度范围为 0.1-500 μg/L。校准曲线示例如图 2 所示，R<sup>2</sup> (相关系数) 均大于 0.999。葡萄酒样品测定 3 次，加标的葡萄酒样品 (Sn 的含量分别为 0.5、1 和 10 μg/L) 作为整个样品序列中的质量对照样品进行测定。

在进入雾化器之前采用混合三通将内标溶液 (采用 1% 硝酸稀释至 1 μg/L) 与样品混合，内标中含有 <sup>6</sup>Li、<sup>45</sup>Sc、<sup>72</sup>Ge、<sup>89</sup>Y、<sup>115</sup>In、<sup>159</sup>Tb 和 <sup>209</sup>Bi。根据国际理论和应用化学联合会 (IUPAC) 的建议，实验通过 7 个样品空白测定了方法的检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ)。LOD、LOQ 和检测限度 (DL) 如表 2 所示。

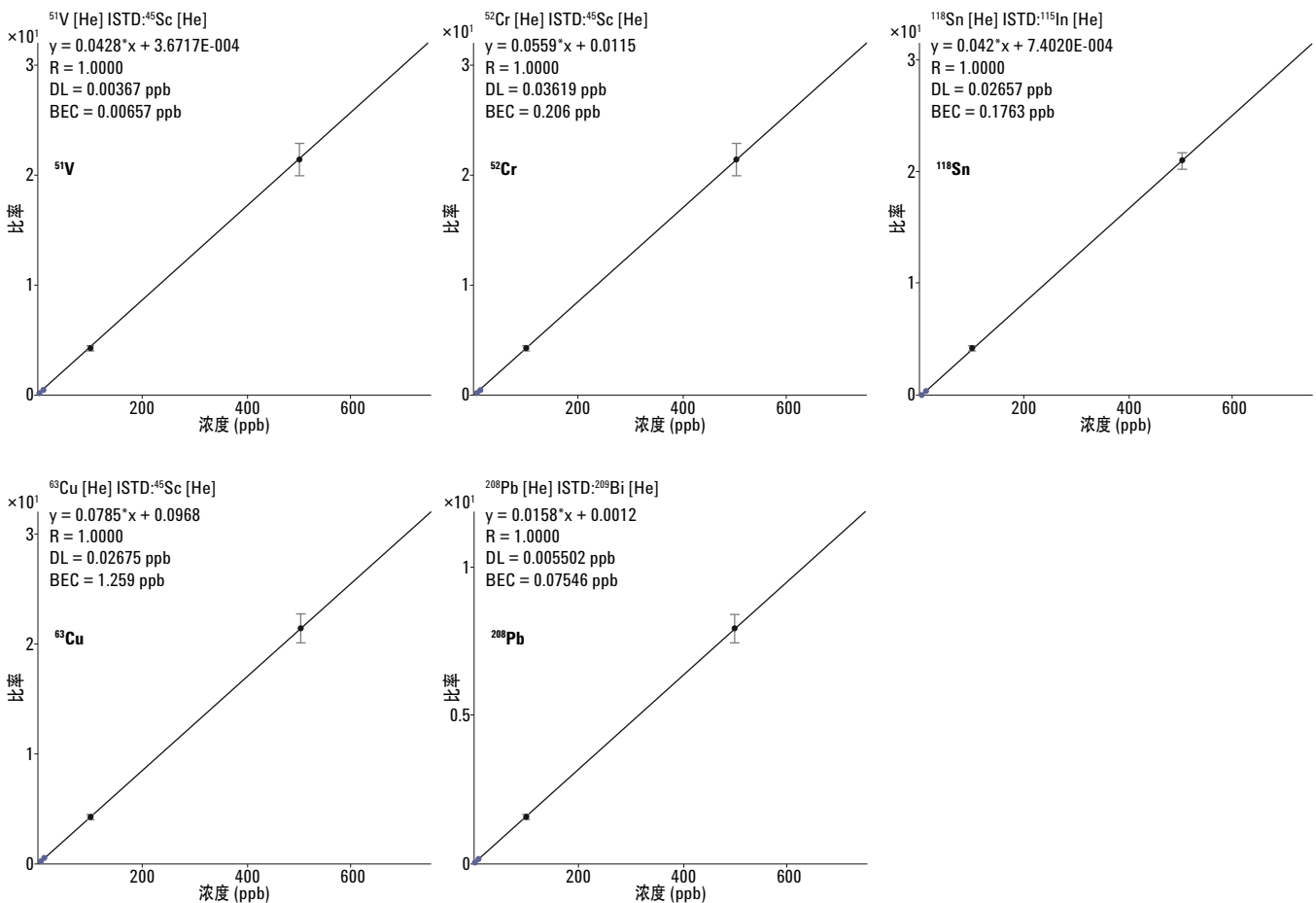


图 2. 浓度范围 0.1-500 μg/L 间五种具有显著差异的元素的校准曲线 (n = 3)

表 2. 5 种显著差异性元素的检测限 (LOD)、定量限 (LOQ) 和检测限度 (DL), 单位为  $\mu\text{g}/\text{L}$  ( $n = 7$ )

	$^{51}\text{V}$	$^{52}\text{Cr}$	$^{63}\text{Cu}$	$^{118}\text{Sn}$	$^{208}\text{Pb}$
LOD*	0.001	0.007	0.044	0.018	0.001
LOQ†	0.003	0.023	0.14	0.057	0.003
DL‡	0.004	0.036	0.027	0.027	0.006

\* LOD =  $3.14 \times \text{sd}$  (标准偏差)

† LOQ =  $10 \times \text{sd}$

‡ DL 由 Agilent ICP-MS MassHunter 工作站软件 (A.01.02 版) 得出

### 痕量金属元素浓度的差异来自样品包装类型和储存温度的不同

从表 3 可看出, 由于所采用的样品包装类型和储存温度不同, 样品中所含的 V、Cr、Pb、Cu 和 Sn 五种元素的浓度明显不同。显而易见, 盒装酒所含的痕量金属元素浓度最低。相比于盒装酒样品, 瓶装酒样品含有的 Cr 浓度较高, 可能是由于瓶装酒在灌装前需要在不锈钢罐中保存 2 天所致。

在较高温度下, 螺旋盖包装样品中的 Sn 浓度更高, 但 V 和 Cu 的浓度随着储存温度的升高而降低。在所有其他葡萄酒包装类型 (天然软木塞和盒装) 中, 同样出现 Cu 浓度降低的情况。在所有储存温度下, 高位灌装的螺旋盖瓶装酒样品中的 V、Cu 和 Sn 浓度最高。所有元素含量均低于现有的法定限值。

仅螺旋盖包装的样品中检测到了 Sn 含量的升高, 有力说明了 Sn 从 Sn-PVDC 内衬浸出进入存储的葡萄酒中。此影响在最高  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  的储存温度下最为明显, 因为温度升高时, 储存的葡萄酒体积会发生膨胀, 从而导致葡萄酒会在储存过程中接触到螺旋盖内衬。但在储存温度较低的情况下 Sn 如何浸入到葡萄酒还不是很清楚, 因为葡萄酒并未与内衬接触。

实验发现, 样品包装类型和储存温度不同的情况下, 铅的含量明显不同, 高位灌装的螺旋盖瓶装样品在  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  的条件下含铅量最高 (表 3)。这些差别很可能是由不同包装造成的, 也可能是由于温度变化促使金属离子与葡萄酒中的其他成分形成金属络合物。

表 3. 不同包装类型和储存温度下浓度明显不同的元素 ( $p \leq 0.05$ )

		$^{51}\text{V}$	$^{52}\text{Cr}$	$^{63}\text{Cu}$	$^{118}\text{Sn}$	$^{208}\text{Pb}$
盒装	$10\text{ }^{\circ}\text{C}$	14.8	14.1	21.1	0.1	4.3
	$20\text{ }^{\circ}\text{C}$	15.4	14.7	22	0.0	4.5
	$40\text{ }^{\circ}\text{C}$	13.9	14.1	11	0.0	4.6
软木塞	$10\text{ }^{\circ}\text{C}$	15.5	22	84.1	0.8	5.4
	$20\text{ }^{\circ}\text{C}$	15.6	22.3	59.8	0.6	5.2
	$40\text{ }^{\circ}\text{C}$	13.1	18.4	28.5	0.4	4.5
螺旋盖低位灌装	$10\text{ }^{\circ}\text{C}$	15.5	22.7	41.5	6.0	5.1
	$20\text{ }^{\circ}\text{C}$	15.7	23	50.5	8.7	5.5
	$40\text{ }^{\circ}\text{C}$	15.3	22.7	33.8	12.3	5
螺旋盖高位灌装	$10\text{ }^{\circ}\text{C}$	34.7	22.9	152.7	6.3	8.8
	$20\text{ }^{\circ}\text{C}$	22.1	22.1	68.7	8.3	6.5
	$40\text{ }^{\circ}\text{C}$	20.4	22.5	50.2	16.0	6.4

图 3 中的热图和图 4 中的图表显示了所监测 20 种金属元素的差异，按不同包装类型和储存温度显示。显然，这些元素浓度的分布模式可用来指示葡萄酒灌装和储存温度的历史。在所有 3 种储

存温度条件下，盒装样品和高位灌装的螺旋盖瓶装样品的热图模式差异最大。

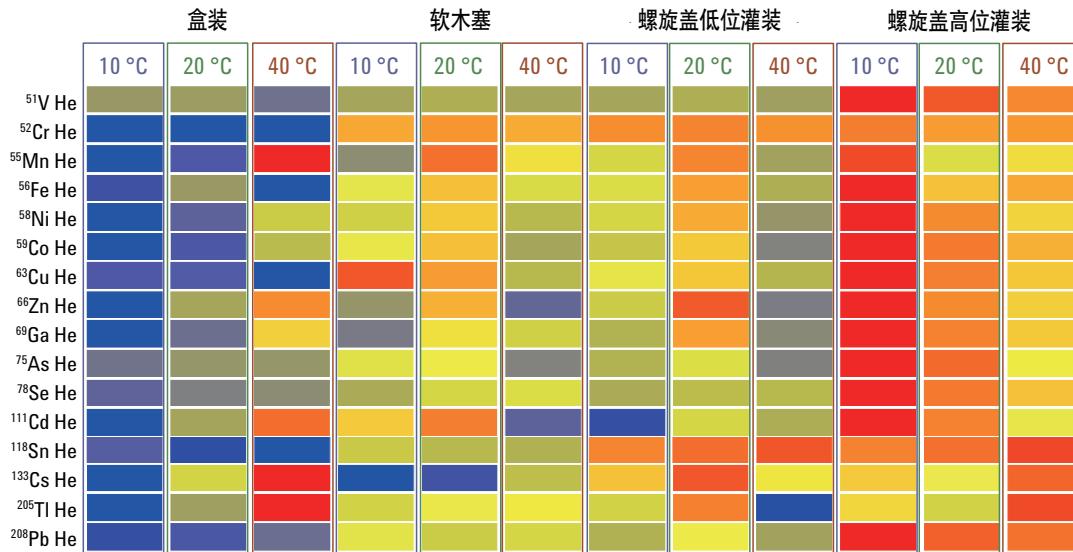


图 3. 按照储存温度和葡萄酒包装类型区分的所监测元素的热图；蓝色 = 低浓度；黄色 = 中等浓度；红色 = 高浓度

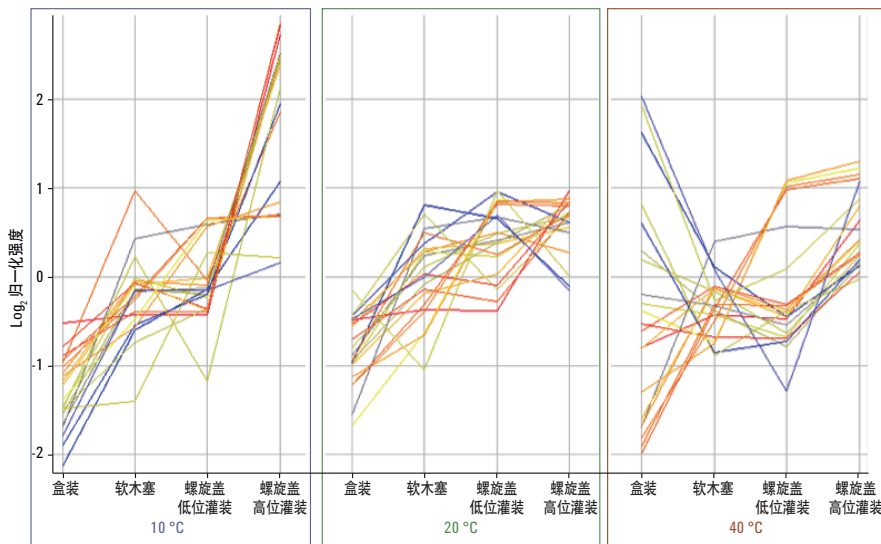


图 4. 按照储存温度和葡萄酒包装类型区分的所有监测元素的  $Log_2$  归一化强度（每条线代表一个不同的元素）

## 主成分分析

通过五个具有显著差异的元素，采用 Mass Profiler Professional 软件进行主成分分析 (PCA)，获得样品相似性和差异性图示 (图 5 和图 6)。在最初的 2 个主成分中 (PC)，对总方差的 93.2% 进行了诠释，其中 76.0% 归为第一维，其余 17.2% 归为第二维。

样品沿 PC 1 轴按不同包装类型聚类分布，PCA 二维图 (图 5) 的左边为盒装样品，旁边是软木塞的瓶装样品。两种螺旋盖样品 (高位灌装和低位灌装的螺旋盖样品) 位于中间和二维图的右侧。根据样品包装类型，储存温度沿 PC 2 轴将样品分成不同等级。因此，PCA 分析可区分 4 种包装类型，然后通过元素浓度分布确定葡萄酒样品的包装历史。

根据元素含量的差异对样品进行了区分，如图 6 所示。每个元素与图中原点的距离是区分包装类型和 (或) 储存条件贡献大小的特征性指标。如此看来，所有这五种元素均扮演了主要角色。

图 7 的文氏图显示，在所有包装类型中所测 5 种元素成分差别最大，因此包装类型是决定元素组成的重要区分指标，而不是储存条件。

## 结论

采用 ICP-MS 进行葡萄酒分析表明，外在因素 (如葡萄酒包装和储存条件) 对葡萄酒的元素分布有明显的影响。包装类型对葡萄酒的元素组成具有最大的影响，而温度会显著影响 Cu 的含量。进一步的研究密切关注了葡萄酒酿造和储存的不同阶段，可更好地了解在葡萄酒酿造过程中哪些元素受影响最大。

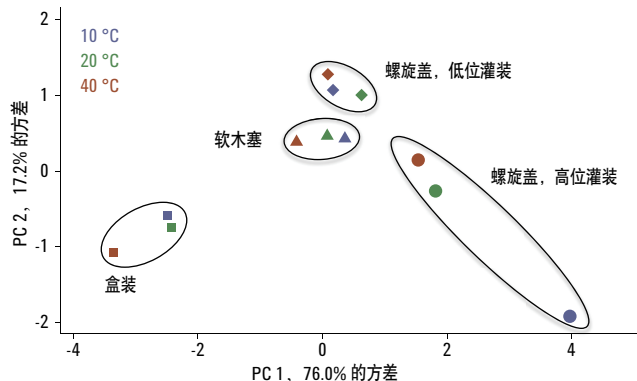


图 5. PCA 二维聚类图, PC 1 显示包装类型与元素的相关性, PC 2 显示温度与元素的相关性

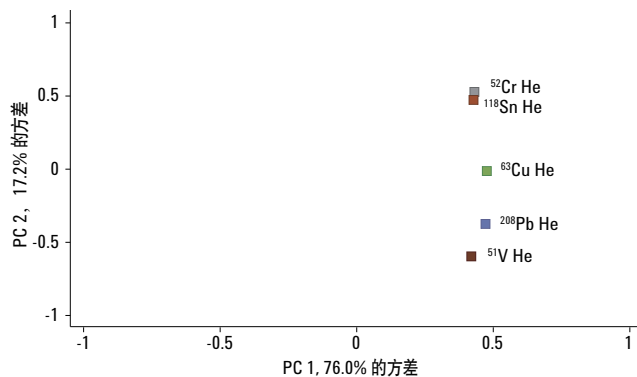


图 6. PCA 负荷图说明了每个痕量元素随着元素主成分 PC 1 和 PC 2 在不同储存和包装条件下的重要性

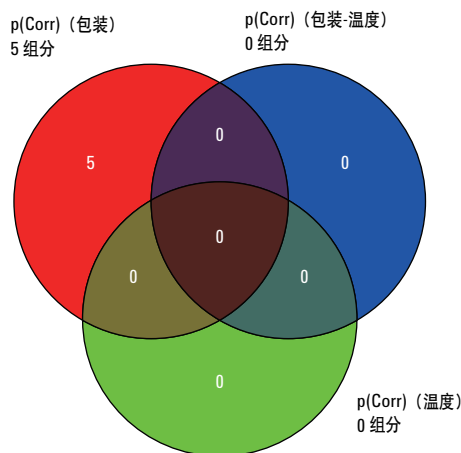


图 7. 文氏图显示包装类型决定了葡萄酒中痕量元素组成的差异，而非温度或温度和包装共同的影响

## 参考文献

1. H. Hopfer, *et al.*, "Profiling the trace metal composition of wine as a function of storage temperature and packaging type", *J. Anal. At. Spectrom.*, 28, 1288-1291 (2013)
2. V. F. Taylor, *et al.*, "Multielement analysis of Canadian wines by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and multivariate statistics", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 856-860 (2003)
3. E. C. Rossano, *et al.*, "Influence of winemaking practices on the concentration of rare earth elements in white wines studied by inductively coupled plasma mass spectrometry", *J. Agric. Food Chem.*, 55, 311-317 (2007)

## 更多信息

这些数据代表典型结果。有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的 Web 站点：[www.agilent.com.cn/chem/cn](http://www.agilent.com.cn/chem/cn)。

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013  
中国印制  
2013 年 8 月 1 日  
5991-2570CHCN



**Agilent Technologies**