

T/XJWA

新疆维吾尔自治区酿酒工业协会团体标准

T/XJWA 013—2024

新疆干红葡萄酒风味质量表征方法

Characterization Method for Flavor Quality of Xinjiang Dry Red Wine

2024 - 12 - 20 发布

2024 - 12 - 30 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由新疆维吾尔自治区酿酒工业协会提出。

本文件由新疆维吾尔自治区酿酒工业协会归口。

本文件起草单位：西北农林科技大学、吐鲁番楼兰酒庄股份有限公司、新疆农业大学、新疆葡萄酒庄酒工程技术研究中心。

本文件主要起草人：陶永胜、靳国杰、刘秀海、范国元、李运奎、白雪冰、武运、张海军、朱晓冬、江科、李爱华。

新疆干红葡萄酒风味质量表征方法

1 范围

本文件规定了新疆干红葡萄酒风味质量的术语和定义、表征方法。
本文件适用于新疆干红葡萄酒风味质量的表征。

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于本文件；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 15037 葡萄酒
- GB/T 15038 葡萄酒、果酒通用分析方法
- GB/T 23543 葡萄酒企业良好生产规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 总酚

葡萄酒中所有多酚物质的总含量。

3.2 黄酮醇

葡萄酒中所有黄酮醇类物质的总含量。

3.3 酒石酸酯

葡萄酒中的酒石酸和乙醇通过脱水生成的化合物，反映葡萄酒的酯化状况。

3.4 黄烷醇

葡萄酒中所有黄烷醇类物质的总含量。

3.5 总单宁

葡萄酒中所有单宁物质的总含量。

3.6 盐酸指数

表示高聚合单宁的比例，高聚合单宁的比例可以间接反映出葡萄酒的陈年能力和老化速度。

3.7 乙醇指数

表明了葡萄酒中与多糖结合的单宁比例，反映了葡萄酒的柔和性。乙醇指数越高，表明葡萄酒的收敛性越弱，口感越柔和。

3.8 明胶指数

表示小分子单宁的比例，即与蛋白质结合的单宁（苦味单宁）的比例。

3.9 DPPH 抗氧化活性

反映葡萄酒抗氧化活性强度。

3.10 总酸

葡萄酒中的所有可滴定酸，为挥发酸和固定酸的总和。

4 干红葡萄酒风味理化指标表征方法

4.1 原理

干红葡萄酒的风味理化指标对应的风味物质（或经处理后）在特定波长下有较大吸收，且不同风味物质（或经处理后）较大吸收的特定波长不同。采用分光光度分析法测定干红葡萄酒样（或经处理后）在各特定波长下的吸光度值，测定相应风味物质的含量或指数，从而表征干红葡萄酒的风味理化指标，反映干红葡萄酒的风味理化性质。

4.2 试剂与材料

- 4.2.1 蒸馏水。
- 4.2.2 无水乙醇：99.5 %（V/V）。
- 4.2.3 甲醇：分析纯。
- 4.2.4 酒石酸：分析标准品。
- 4.2.5 没食子酸：分析标准品。
- 4.2.6 槲皮素：分析标准品。
- 4.2.7 咖啡酸：分析标准品。
- 4.2.8 氯化钠：分析纯。
- 4.2.9 p-DMACA：4-（二甲基氨基）肉桂醛，分析标准品。
- 4.2.10 氢氧化钠：分析纯。
- 4.2.11 儿茶素：分析标准品。
- 4.2.12 浓盐酸：12 mol/L。
- 4.2.13 明胶：分析纯。
- 4.2.14 DPPH：1,1-二苯基-2-三硝基苯肼，分析纯。
- 4.2.15 甲基纤维素：高纯，粘度 4000 mPa.s。
- 4.2.16 硫酸铵：分析纯。
- 4.2.17 Trolox：水溶性维生素 E，分析纯。

4.3 仪器

- 4.3.1 紫外可见分光光度计：波长范围为 200~1000 nm，吸光度精确至 0.001。
- 4.3.2 分析天平：感量 0.0001 g。
- 4.3.3 冰箱：4±0.1 °C。
- 4.3.4 恒温水浴锅：室温~100±0.1 °C。
- 4.3.5 离心机：最高转速 12000 r/min 以上。

4.4 步骤

4.4.1 总酚、黄酮醇、酒石酸酯的表征

4.4.1.1 溶液配置

95%乙醇溶液：取95 mL无水乙醇，用蒸馏水定容至100 mL。

10%乙醇溶液：取10 mL无水乙醇，用蒸馏水定容至100 mL。

0.1%HCL-95%乙醇水溶液：浓盐酸体积分数为36%，假定配置100 mL，取浓盐酸0.28 mL（36%×V浓=0.1%×100，则V浓=0.28 mL，配置其他体积的溶液，可做相应计算），用95%乙醇溶液定容至100 mL。

标准液系列：

（1）没食子酸标准液：分别称取没食子酸0 mg、100 mg、200 mg、300 mg、400 mg、500 mg，用10%乙醇溶液溶解并定容至1 L，分别得到0 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、300 mg/L、400 mg/L、500 mg/L的没食子酸标准液。

(2) 槲皮素标准液：分别称取槲皮素0 mg、100 mg、200 mg、300 mg、400 mg、500 mg，用95%乙醇溶液溶解并定容至1 L，分别得到0 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、300 mg/L、400 mg/L、500 mg/L的槲皮素标准液。

(3) 咖啡酸标准液：分别称取咖啡酸0 mg、100 mg、200 mg、300 mg、400 mg、500 mg，用10%乙醇溶液溶解并定容至1 L，分别得到0 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、300 mg/L、400 mg/L、500 mg/L的咖啡酸标准液。

试样制备：取0.5 mL酒样，用10%乙醇溶液定容至5 mL，即将酒样稀释10倍。从稀释的酒样中取0.25 mL，加入0.25 mL的0.1% HCl-95%乙醇水溶液，加入4.55 mL的2% HCl溶液，摇匀后静置15 min，置于4℃冰箱中保存备用。

4.4.1.2 标准曲线

分别取0.5 mL (5.4.1.1) 中的标准液，用10%乙醇溶液稀释至5 mL。从稀释的标准液中取0.25 mL，加入0.25 mL的0.1% HCl-95%乙醇水溶液，加入4.55 mL的2% HCl溶液，摇匀后静置15 min，使用10 mm光程的石英比色皿测定在特定波长处的吸光度值，以标准液的浓度对吸光度值做标准曲线（线性相关系数应为0.9990以上）。

测定总酚时，标准液为没食子酸标准液，特定波长为280 nm，相应的标准曲线为

$$A_{280} = K_{280} \times C_{280} + K_{280}^* \dots \dots \dots (1)$$

式(1)中：

A_{280} —没食子酸标准液在280 nm下的吸光度值；

K_{280} —标准曲线的斜率，L/mg；

C_{280} —没食子酸标准液的浓度，mg/L；

K_{280}^* —标准曲线的截距。

测定黄酮醇时，标准液为槲皮素标准液，特定波长为360 nm，相应的标准曲线为

$$A_{360} = K_{360} \times C_{360} + K_{360}^* \dots \dots \dots (2)$$

式(2)中：

A_{360} —槲皮素标准液在360 nm下的吸光度值；

K_{360} —标准曲线的斜率，L/mg；

C_{360} —槲皮素标准液的浓度，mg/L；

K_{360}^* —标准曲线的截距。

测定酒石酸酯时，标准液为咖啡酸标准液，特定波长为320 nm，相应的标准曲线为

$$A_{320} = K_{320} \times C_{320} + K_{320}^* \dots \dots \dots (3)$$

式(3)中：

A_{320} —咖啡酸标准液在320 nm下的吸光度值；

K_{320} —标准曲线的斜率，L/mg；

C_{320} —咖啡酸标准液的浓度，mg/L；

K_{320}^* —标准曲线的截距。

4.4.1.3 表征

取(5.4.1.1)中制备的试样，使用10 mm光程的石英比色皿分别于280 nm、360 nm、320 nm处测定吸光度值，对照(5.4.1.2)的标准曲线，计算酒样总酚、黄酮醇、酒石酸酯的含量（分别以没食子酸、槲皮素、咖啡酸计）。

$$C_{\text{总酚}} = (A_{\text{总酚}} - K_{280}^*) / K_{280} \dots \dots \dots (4)$$

式(4)中：

$C_{\text{总酚}}$ —酒样总酚含量（mg/L，以没食子酸计）；

$A_{\text{总酚}}$ —酒样在280 nm处的吸光度值。

$$C_{\text{黄酮醇}} = (A_{\text{黄酮醇}} - K_{360}^*) / K_{360} \dots \dots \dots (5)$$

式(5)中：

$C_{\text{黄酮醇}}$ —酒样黄酮醇含量（mg/L，以槲皮素计）；

$A_{\text{黄酮醇}}$ —酒样在360 nm处的吸光度值。

$$C_{\text{酒石酸酯}} = (A_{\text{酒石酸酯}} - K_{320}^*) / K_{320} \dots\dots\dots (6)$$

式(6)中:

$C_{\text{酒石酸酯}}$ —酒样酒石酸酯含量(mg/L,以咖啡酸计);

$A_{\text{酒石酸酯}}$ —酒样在320 nm处的吸光度值。

4.4.2 黄烷醇的表征

4.4.2.1 溶液配置

50%乙醇溶液:取50 mL无水乙醇,用蒸馏水定容至100 mL。

模拟酒:称取酒石酸1.25 g,称取氯化钠2.925 g,量取无水乙醇30 mL,用蒸馏水定容至250 mL,用饱和氢氧化钠溶液调节pH至3.6。

1 mol/L盐酸甲醇溶液:量取8.484 mL浓盐酸,加甲醇定容至100 mL。

0.1% p-DMACA溶液:即含0.1% p-DMACA的1 mol/L的盐酸甲醇溶液。称取0.1 g p-DMACA,加1M盐酸甲醇溶液定容至100 mL。

酚母液:称取0.0500 g儿茶素,加2 mL的50%乙醇溶液(V/V),溶解儿茶素后倒入10 mL容量瓶,用模拟酒定容。

酚标液:吸取0 μ L、4 μ L、8 μ L、12 μ L、20 μ L、30 μ L的酚母液,分别转入6只10 mL的容量瓶中,用模拟酒定容至10 mL,得到浓度分别为0 mg/L、2 mg/L、4 mg/L、6 mg/L、10 mg/L、15 mg/L的酚标液。

调零溶液:取0.4 mL模拟酒,加入2 mL的0.1% p-DMACA溶液。

试样制备:取0.1 mL红葡萄酒,用甲醇稀释至2 mL,即将酒样稀释20倍。

4.4.2.2 标准曲线

取0.4 mL酚标液,加入2 mL的0.1% p-DMACA溶液,摇匀,室温下静置反应10 min,以调零溶液为参比,用2 mm光程的比色皿于640 nm处测定吸光度值。以酚浓度为横坐标,以640 nm处的吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线。

4.4.2.3 表征

取0.4 mL稀释后的酒样,加入2 mL的0.1% p-DMACA溶液,摇匀,室温下静置反应10 min,以调零溶液为参比,用2 mm光程的比色皿于640 nm处测定吸光度值,对照(5.4.2.2)的标准曲线,计算酒样黄烷醇的含量(以儿茶素计,mg/L)。

4.4.3 总单宁的表征

4.4.3.1 溶液配置

0.04%甲基纤维素溶液(室温可放置2周)配制:称取0.4000 g甲基纤维素,缓慢加入到装有300 mL 80°C蒸馏水的1 L烧杯中,期间不断快速摇晃,避免形成大的结块,将瓶壁上的甲基纤维素全部溶解。继续向烧杯中加入0~5°C的蒸馏水直到接近1 L刻度,并在0~5°C(冰浴)下搅拌20~40分钟。脱离冰浴继续摇动,直到溶液变澄清为止。将溶液放置到室温,用蒸馏水定容至1 L。

饱和硫酸铵溶液(室温可放置6个月)配制:向500 mL烧杯中加入300 mL蒸馏水,加入硫酸铵晶体,直到瓶底部有1.5 cm厚度的硫酸铵结晶析出为止。

儿茶素母液(5 g/L)配制:准确称取0.25 g儿茶素,用10%乙醇溶液或蒸馏水溶解并定容至50 mL,得到5 g/L的儿茶素母液。

儿茶素标液(0.5 g/L)配制:量取儿茶素母液10 mL,用10%乙醇溶液或蒸馏水定容至100 mL,得到0.5 g/L的儿茶素标液。

4.4.3.2 标准曲线

取10 mL规格的试管8支,分别取儿茶素标液0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL、1.20 mL、1.40 mL。分别加入蒸馏水10.00 mL、9.80 mL、9.60 mL、9.40 mL、9.20 mL、9.00 mL、

8.80 mL、8.60 mL。用10 mm光程的石英比色皿，于280 nm波长处测定吸光度值。以儿茶素浓度为横坐标，以280 nm处的吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

示例：

参考标准曲线：

$$Y_{\text{abs,tan}}=0.0122X_{\text{tan}}+0.0047 \dots\dots\dots (7)$$

式中：

$Y_{\text{abs,tan}}$ 为吸光度值；

X_{tan} 为单宁浓度。

4.4.3.3 表征

处理组：在10 mL离心管中加入0.125 mL红葡萄酒，加入3 mL甲基纤维素溶液，上下翻转数次后静置2-3 min，加入2 mL饱和硫酸铵溶液，用蒸馏水定容至10 mL。室温下静置10 min后12000r离心5 min，用10 mm光程的比色皿于280 nm处测定吸光度值，以蒸馏水为参比。

对照组：在10 mL离心管中加入0.125 mL红葡萄酒，加入2 mL饱和硫酸铵溶液，用蒸馏水定容至10 mL。室温下静置10 min后，离心5 min（12000 r/min），用10 mm光程的比色皿于280 nm处测定吸光度值，以蒸馏水为参比。

对照组的吸光度值减去处理组的吸光度值，将此吸光度差值代入（5.4.3.2）中的标准曲线，计算酒样总单宁含量（mg/L，以儿茶素计）。

4.4.4 盐酸指数的表征

取5 mL离心管，加入500 μ L酒样、250 μ L蒸馏水、750 μ L浓盐酸。摇匀后立即取200 μ L混合液，加入2.8 mL蒸馏水稀释，用10 mm光程的比色皿（狭缝宽度2 mm，下同）于280 nm处测定吸光度 A_1 。

取5 mL离心管，加入500 μ L酒样、250 μ L蒸馏水、750 μ L浓盐酸。摇匀后常温下静置7 h，离心后取500 μ L上清液，加入7 mL蒸馏水，用10 mm光程的比色皿于280 nm处测定吸光度 A_2 。

按公式（8）计算盐酸指数：

$$I_{\text{hc}}= (A_1-A_2) / A_1 \times 100 \dots\dots\dots (8)$$

式中：

I_{hc} 为盐酸指数（%）。

4.4.5 乙醇指数的表征

取5 mL离心管，加入0.4 mL酒样、3.6 mL无水乙醇。混合均匀，立刻取1 mL混合液，加入3 mL蒸馏水稀释，用10 mm光程的比色皿于280 nm处测定吸光度值 A_3 。

取5 mL离心管，加入0.4 mL酒样、3.6 mL无水乙醇。混合均匀后常温下静置24 h，离心后取1 mL上清液，加入3 mL蒸馏水稀释，用10 mm光程的比色皿于280 nm处测定吸光度值 A_4 。

按公式（9）计算乙醇指数：

$$I_{\text{eth}}= (A_3-A_4) / A_3 \times 100 \dots\dots\dots (9)$$

式中：

I_{eth} 为乙醇指数（%）。

4.4.6 明胶指数的表征

4.4.6.1 溶液配置

2%明胶溶液：称取2.0000 g明胶，在水浴加热的情况下加入到100 mL蒸馏水中溶解。

4.4.6.2 表征

取0.2 mL酒样，加入3.8 mL蒸馏水、100 μ L蒸馏水，用1 mm光程的比色皿于280 nm处测定吸光度值 A_5 。

取0.2 mL酒样，加入3.8 mL蒸馏水、100 μ L的2%明胶溶液，摇匀，于4℃冰箱静置48 h，离心取上清液，用1 mm光程的比色皿于280 nm处测定吸光度值 A_6 。

按公式（10）计算明胶指数：

$$I_{\text{gel}} = (A_5 - A_6) / A_5 \times 100 \dots\dots\dots (10)$$

式中：

I_{gel} 为明胶指数（%）。

4.4.7 DPPH 抗氧化活性的表征

4.4.7.1 溶液配置

DPPH甲醇溶液：称取12.5 mg的DPPH，用甲醇溶解并定容到100 mL。于使用前，取一定量的此溶液，用甲醇稀释5倍（即浓度25 mg/L），即得DPPH甲醇溶液，当日现配现用。

Trolox标液：称取0.0626 g的Trolox标准品，用无水乙醇定容到50 mL，即得浓度为5 mmol/L的Trolox母液。

4.4.7.2 标准曲线

取Trolox标液0 μ L、4 μ L、8 μ L、12 μ L、16 μ L、20 μ L，分别添加蒸馏水至0.1 mL（浓度分别为0 μ mol/L、200 μ mol/L、400 μ mol/L、600 μ mol/L、800 μ mol/L、1000 μ mol/L），加入3.9 mL的DPPH甲醇溶液，避光反应20 min，以DPPH甲醇溶液为参比，用10 mm光程的比色皿于517 nm处测定吸光值。以Trolox浓度为横坐标，以吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

示例：

参考标准曲线：

$$Y_{\text{abs,DPPH}} = -0.0005X_{\text{DPPH}} + 0.5923 \dots\dots\dots (11)$$

式中：

$Y_{\text{abs,DPPH}}$ 为吸光度值；

X_{DPPH} 为DPPH抗氧化活性，以Trolox等效抗氧化能力(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC)表示，单位为 μ mol/L。

4.4.7.3 表征

取0.1 mL葡萄酒样品，加入3.9 mL的DPPH甲醇溶液，室温下（23±1℃）避光反应20 min，以DPPH甲醇溶液为参比，用10 mm光程的比色皿于517 nm处测定吸光值。根据（5.4.7.2）中的标准曲线，得到DPPH抗氧化活性值，结果以Trolox的当量值TEAC表示，单位为 μ mo/L。每个酒样处理重复3次。

4.4.8 pH 的表征

参照GB/T 15038进行表征。

4.4.9 总酸的表征

参照GB/T 15038进行表征。

4.5 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对标准偏差不得超过算术平均值的5%（即变异系数不得超过0.05）。