

中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

品种葡萄酒识别技术导则

Guideline for the identification of varietal wines

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXX—XX—XX 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国酿酒标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国食品发酵工业研究院。

本标准主要起草人：。

本标准为首次制定。

引 言

葡萄品种是葡萄酒品质的重要影响因素之一，由于缺少相应的分析技术手段，政府监管机构难以对品种葡萄酒的真实性进行有效识别。与此同时，国际上主要的葡萄酒生产国家、地区已经开始利用先进的分析手段对品种葡萄酒进行识别。例如，欧盟已率先建立了葡萄酒数据银行（wine databank）——通过收集欧盟国家和其他国家的葡萄酒样品，结合葡萄产地、生产年份、葡萄品种等有关参数，建立以品种葡萄酒相关特征组分为技术指标的数据库，并以此作为品种葡萄酒识别的重要依据。

本标准参考国际上已有的品种葡萄酒识别技术经验，根据我国葡萄酒产业情况以及分析检测技术水平而制定，可用于对葡萄原料全部产自相同品种、相同年份的品种葡萄酒进行识别。

品种葡萄酒识别技术导则

1 范围

本标准规定了品种葡萄酒 识别技术方案和识别程序。

本标准适用于对葡萄原料全部采用同一年份和品种的葡萄酒的品种进行识别。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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

3.1 品种葡萄酒

采用单一品种葡萄酿造的葡萄酒。

4 识别技术方案

收集不同品种的酿酒葡萄和葡萄酒作为建模样品，测定其具有品种特点的特征性指标；结合建模样品的品种、年份、产地信息，建立特征性指标数据库；通过统计学方法建立相应的品种葡萄酒识别模型；将符合上述数据库信息的供试葡萄酒样品的特征性指标数据代入品种葡萄酒识别模型，用以识别供试样品的品种真实性。具体品种葡萄酒识别流程如图1所示。

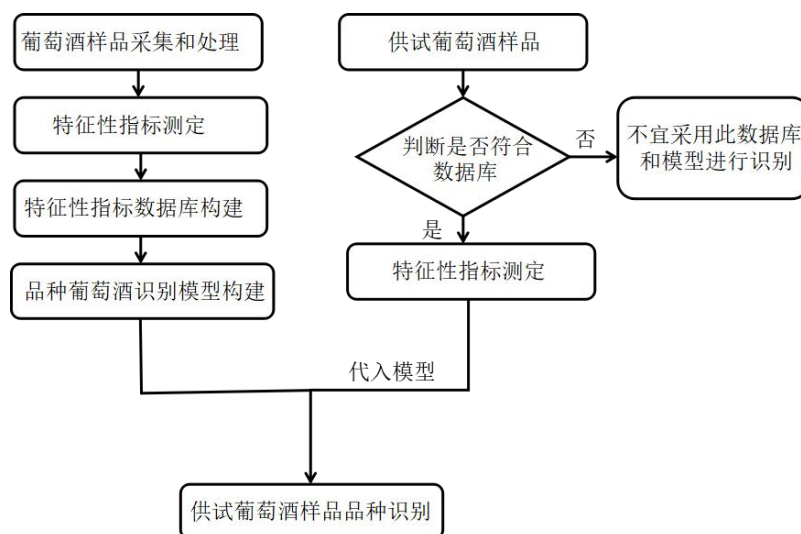


图 1 品种葡萄酒识别流程示意图

5 识别程序

5.1 建模样品的采集和处理

5.1.1 采集不同年份的品种葡萄原料和品种葡萄酒样品。

5.1.2 每年度同一品种的建模样品数量不少于 20 个，其中葡萄原料样品不应少于 10 个。

5.1.3 建模样品采集、信息登记和样品处理方法参见附录 A。

5.2 建模样品的特征性指标测定

5.2.1 指标选择

筛选可用于品种葡萄酒识别的特征性指标，如有机酸、花青素和有机物氢原子指纹图谱，或其他具有品种特征的指标。

5.2.2 测定方法

5.2.2.1 有机酸测定

葡萄样品及葡萄酒样品中有机酸的测定按照附录B方法执行。

5.2.2.2 花青素测定

葡萄样品及葡萄酒样品中花青素的测定按照附录C方法执行。

5.2.2.3 有机物氢原子指纹图谱测定

葡萄样品及葡萄酒样品中有机物氢原子指纹图谱测定按照附录D方法执行。

5.2.2.4 其他指标测定

其他指标测定按照相应的检测方法标准执行。

5.3 特征性指标数据库构建

结合5.1中的建库样品的品种范围、采集年份、产地等信息，建立以5.2中所测特征性指标为主的数据库。

5.4 品种葡萄酒识别模型构建

5.4.1 数据预处理

根据所选数据模型需求，对葡萄酒样品的数据进行标准化处理，如采用归一化等消除量纲的差异。

5.4.2 模型建立

通过对5.3数据库的数据进行分析，建立品种葡萄酒的识别模型。随机采用2/3数据建模，1/3数据预测，模型仿真预测准确率应达到80%以上。

5.5 供试样品品种识别

5.5.1 样品信息登记

登记供试样品的标注品种、产地和年份等信息。若建模样品数据库范围覆盖供试样品的品种、产地和年份信息，可采用相应的模型进行品种识别。

5.5.2 供试样品测定

按照5.2中指标和方法对供试样品进行测定。

5.5.3 品种识别

将供试样品的测定数据进行预处理后，代入识别模型，若识别模型识别的结果与供试样品标注的品种信息一致，可认为该供试样品的品种为真。

附录 A

(资料性附录)

建模样品采集、登记和处理方法示例

A.1 建模葡萄样品采集

A.1.1 葡萄样品要求

A.1.1.1 采样工作应在葡萄采收期进行，采集的样品应该能够代表所划分的产地情况。

A.1.1.2 采样工作不得在降雨或有露水时进行。

A.1.1.3 采集成熟、饱满、无腐烂的葡萄，每个样品不少于2kg。

A.1.1.4 葡萄采集后冷冻保存(-20℃)于密封容器中，或者新鲜葡萄采摘后压榨取汁，然后冷冻保存(-20℃)。样品可长期冷冻保存。

A.1.2 葡萄样品信息记录

样品采集后，填写葡萄或葡萄汁的相关信息，该信息随附在葡萄或葡萄汁的运输过程中并实时更新针对样品进行的任何处理过程。所需信息如下：

- 产品描述，包括生长地（如地理坐标）、收获年份和葡萄品种等；
- 样品的系列编号；
- 采样日期；
- 授权采集样人员。

A.2 建模葡萄酒样品采集

A.2.1 葡萄酒样品要求

A.2.1.1 葡萄酒样品的葡萄原料应100%来自同一品种。

A.2.1.2 所采集的葡萄酒样品应该能够代表该品种的情况。

A.2.1.3 每个样品不少于500 mL，样品采集后应密封保存，样品可长期保存。

A.2.2 葡萄酒样品信息记录

样品采集后，填写葡萄酒的相关信息并实时更新针对样品进行的任何处理过程。所需信息如下：

- 产品描述，包括葡萄生长地（如地理坐标）、葡萄收获年份、葡萄品种等；
- 样品的系列编号；
- 采样日期；
- 授权采集样人员。

附录 B
(资料性附录)
葡萄酒中有机酸的测定方法

B.1 范围

本标准规定了葡萄酒中有机酸的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于葡萄酒中草酸、酒石酸、苹果酸、莽草酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸的测定。

B.2 原理

试样采用C18色谱柱和阳离子交换色谱柱分离后，紫外检测器测定，外标法定量分析。

B.3 试剂和材料

除另有说明外，所有试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

B.3.1 乙腈：色谱纯。

B.3.2 浓硫酸。

B.3.3 有机酸标准品（草酸、酒石酸、苹果酸、莽草酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸）（纯度 $\geq 99.0\%$ ）。

B.3.4 有机酸标准储备液：准确称取0.300g 酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸；0.03 g 草酸和莽草酸，用水溶解并定容至100 mL混匀。0℃~4℃低温冰箱保存，一个月内使用。

B.3.5 有机酸标准工作液：准确吸取有机酸标准储备液，用水依次配制系列混标溶液，其中酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸为 100 mg/L~3000 mg/L；草酸、莽草酸为 10 mg/L~300 mg/L 的系列标准工作溶液。现配现用。

B.4 仪器和设备

B.4.1 高效液相色谱仪：配有荧光检测器。

B.4.2 pH 计。

B.4.3 分析天平：感量为 0.1 mg。

B.4.4 涡旋混合器。

B.6 分析步骤**B.6.1 样品前处理**

吸取1.0 mL样品，经0.45 μm 有机系滤膜过滤，经C₁₈色谱柱和阳离子交换色谱柱分离后，液相色谱测定。

B.6.2 参考色谱条件

B.6.2.1 色谱柱 1：C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm, 5 μm ）；或等效色谱柱。

B.6.2.2 色谱柱 2：阳离子交换色谱柱（300 mm×7.8 mm, 5 μm ）或等效色谱柱。

B.6.2.3 检测波长：210 nm。

B.6.2.4 流速：0.60 mL/min。

B.6.2.5 进样体积：20 μL 。

B.6.2.6 柱温：C₁₈ 色谱柱：25℃，阳离子交换柱柱温 65℃。

B.6.2.7 流动相：0.01M 硫酸 等度洗脱。

B.6.3 定性测定

根据各有机酸单标准品的保留时间，与待测样品中组分的保留时间进行定性，定性色谱图见附录B有机酸色谱图。

B.6.4 外标法定量

分别吸取以标准系列浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准工作曲线，测定样品中有机酸色谱峰面积，由标准工作曲线计算样品中的有机酸浓度。

B.7 结果计算

样品中有机酸的含量按式（1）计算：

$$X = c \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X —样品中各有机酸的含量，单位为毫克每升（mg/L）；

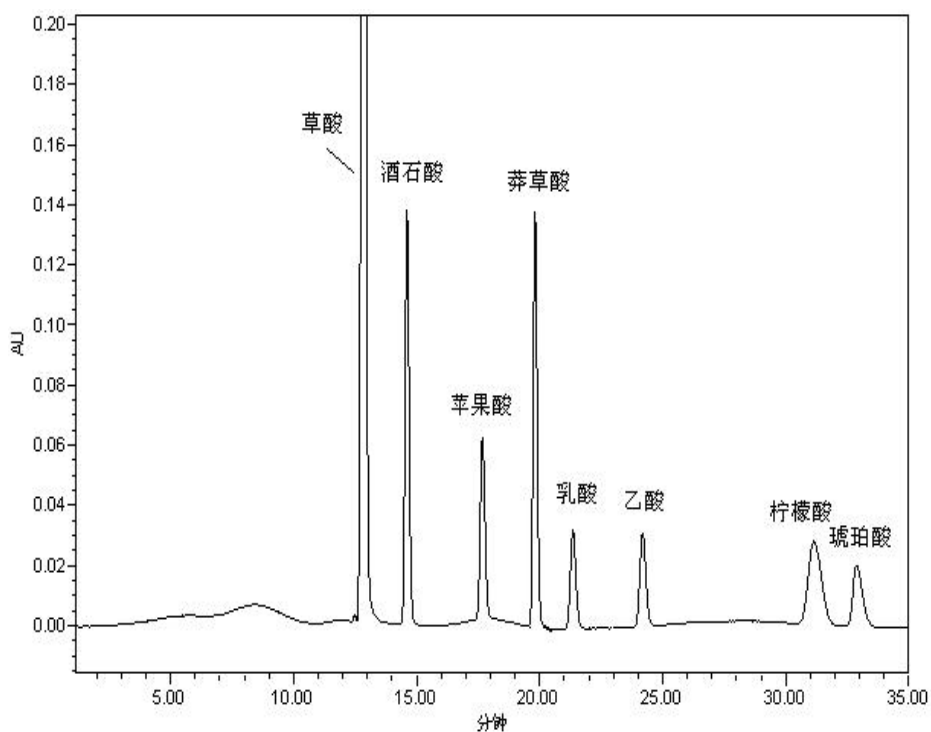
c —从标准曲线查得样品中各有机酸的含量，单位为毫克每升（mg/L）；

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留两位有效数字。

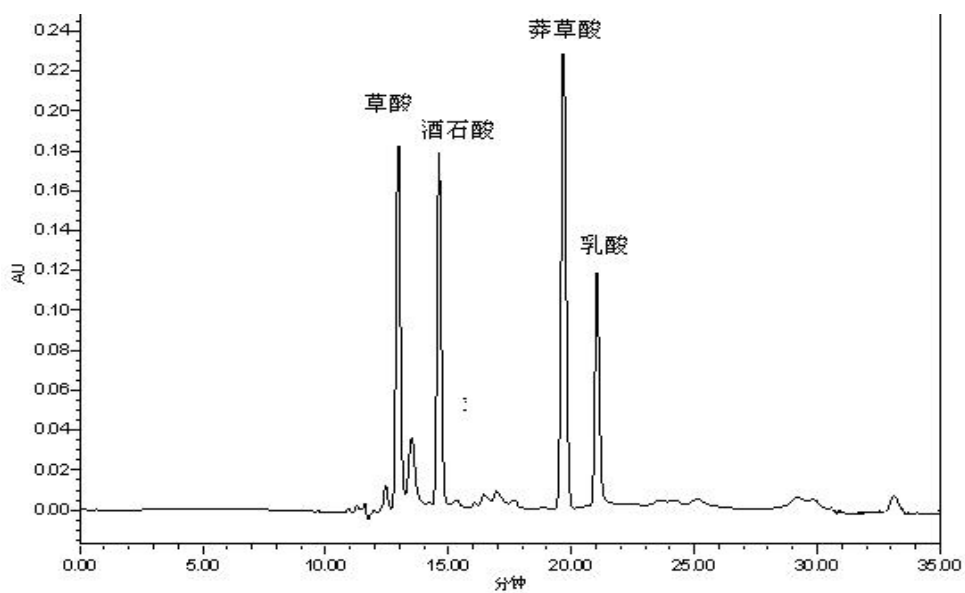
B.8 精密度

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%

附录 B
有机酸色谱图



图B.1八种有机酸色谱图 (C₁₈色谱柱+阳离子交换色谱柱)



图B.2 葡萄酒样品的色谱图 (C₁₈色谱柱+阳离子交换色谱柱)

附录 C
(资料性附录)
葡萄酒中花青素的测定方法

C.1 范围

本标准规定了葡萄酒中花青素的高效液相色谱测定方法。
本标准适用于葡萄酒中花青素的测定。

C.2 原理

试样采用C₁₈色谱柱分离后，紫外检测器测定，面积归一化法定量分析。

C.3 试剂和材料

除另有说明外，所有试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

C.3.1 乙腈：色谱纯。

C.3.2 甲酸：色谱纯。

C.3.3 花青素标准品：（纯度≥99.0%）。

C.3.4 花青素各单标准储备液：准确称取 0.050g，用水溶解并定容至 10 mL 混匀。0℃~4℃低温冰箱保存。

C.4 仪器和设备

C.4.1 高效液相色谱仪：配有荧光检测器。

C.4.2 pH 计。

C.4.3 分析天平：感量为 0.1 mg。

C.4.4 涡旋混合器。

C.4.5 带塞试管。

C.4.6 微孔过滤膜：孔径 0.45 μm(有机系)。

C.4.7 移液管：1.0 mL 和 2.0 mL。

C.5 分析步骤

C.5.1 样品衍生

吸取1.0 mL样品，经0.45 μm有机系滤膜过滤，经C₁₈色谱柱分离后，液相色谱测定。

C.5.2 参考色谱条件

C.5.2.1 色谱柱：C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm, 5 μm）；或等效色谱柱。

C.5.2.2 检测波长：218nm。

C.5.2.3 流速：1.0 mL/min。

C.5.2.4 进样体积：20 μL。

C.5.2.5 柱温：40℃。

C.5.2.6 梯度洗脱：详见表 C.1:

流动相A: 水/甲酸/乙腈= 94:3:3（体积比，pH=1.8） 流动相B: 水/甲酸/乙腈= 47:3:50（体积比）

表 C.1 梯度洗脱程序表

时间 (min)	A (%)	B (%)
0.00	94	6
15	70	30
30	50	50
35	40	60
41	94	6
50	94	6

C.5.3 定性及定量测定

吸取待测样品按照色谱条件测定,采用标准品的保留时间与待测样品中各组分的保留时间进行定性,定性色谱图见附录C花青素色谱图,面积归一化法定量测定。

C.6 结果计算

样品中花青素的含量按式(1)计算:

$$X_i = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X_i ——样品中各花青素组分占的百含量, %;

$\sum A_i$ ——样品中各组分的峰面积之和。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留两位有效数字。

C.7 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%

附录 C
花青素色谱图

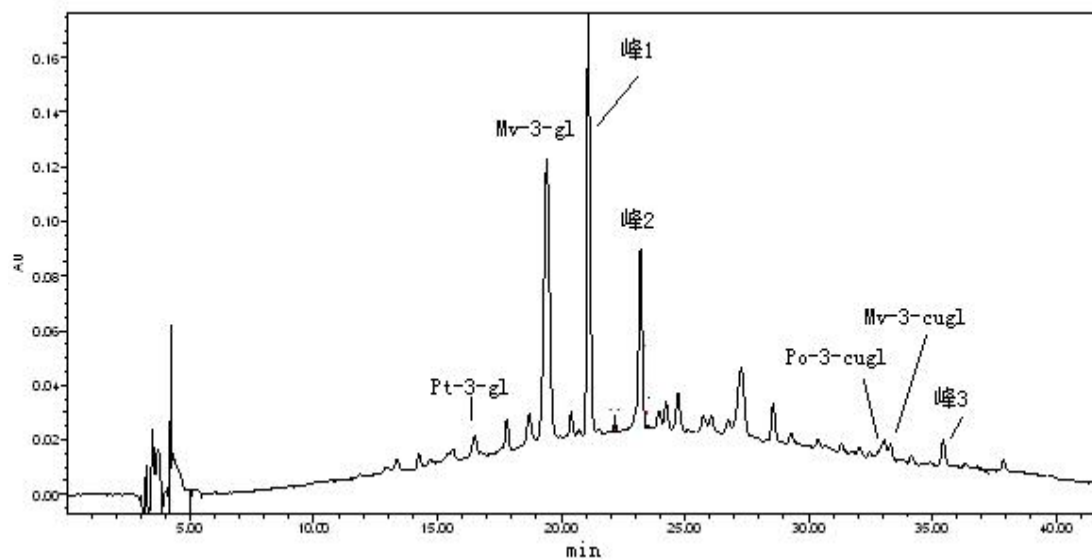


图 C.1 葡萄酒中花青素色谱图

附录 D

(资料性附录)

葡萄酒一维核磁共振氢谱 ($^1\text{H NMR}$) 的测定方法

D.1 范围

本标准规定了葡萄酒一维核磁共振氢谱 ($^1\text{H NMR}$) 的测定方法。

本标准适用于葡萄酒中有机物氢原子指纹特征信息的测定。

D.2 原理

基于对于确定的氢原子,其核磁共振信号强度(峰面积)与产生该信号氢原子的数目成正比的定量原理,采用一维核磁共振氢谱 ($^1\text{H NMR}$) 测定葡萄酒中有机物指纹特征信息。

D.3 试剂和材料

除另有说明外,所有试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的一级水。

D.3.1 试剂

D.3.1.1 重水:纯度 $\geq 99.8\%$ 。

D.3.1.2 3-三甲基硅烷基-1-丙氨磺酸钠(TSP):纯度 $\geq 98\%$ 。

D.3.1.3 磷酸二氢钾:纯度 $\geq 98\%$

D.3.1.4 叠氮化钠:纯度 $\geq 99\%$

D.3.1.5 85%磷酸

D.3.1.6 氢氧化钠

D.3.1.7 盐酸

D.3.2 试剂配制

D.3.2.1 TSP溶液:称取 1.0000 g TSP,加入重水溶解并定容至 10 mL 。

D.3.2.2 叠氮化钠溶液:称取 0.1300 g 叠氮化钠,加入重水溶解并定容至 10 mL 。

D.3.2.3 磷酸二氢钾溶液:称取 8.0000 g 磷酸二氢钾于烧杯中,加入 100 mL 重水溶解。

D.3.2.4 缓冲液: 100 mL 磷酸二氢钾溶液(E.4.2.3)转移至 200 mL 容量瓶中,向其中加入 5 mL 磷酸(E.4.1.5)、 2 mL TSP溶液(E.4.1.2)、 2 mL 叠氮化钠溶液(E.4.1.4)以及 50 mL 重水(E.4.1.1)。静置24小时后,测定该溶液pH值,若 $\text{pH} > 2.0$,则加入适量磷酸(E.4.1.5)调整,若 $\text{pH} < 2.0$,则加入适量磷酸二氢钾(E.4.1.3)调整,直至pH稳定到2.0。

D.4 仪器和设备

D.4.1 核磁共振波谱仪:不低于 400 MHz ;可控温,温度精度不低于 $\pm 0.2\text{ K}$ 。

D.4.2 NMR 样品管:外径 5 mm ,同心且均匀。

D.4.3 pH 计。

D.4.4 涡流振荡器。

D.5 分析步骤

D.5.1 样品制备

用移液枪准确吸取100 μL 缓冲溶液(4.2.4)于2 mL离心管,加入900 μL 葡萄酒样品,采用涡流振荡器振荡30 s,混合均匀。采用2 mol/L的氢氧化钠(E.4.1.6)或盐酸(E.4.1.7)准确调整混合液的pH值至 3.0 ± 0.02 。然后吸取600 μL 混合液于5 mm NMR样品管中,核磁共振测定。

D.5.2 核磁共振参考条件

D.5.2.1 NMR 样品管不旋转。

D.5.2.2 检测温度: 300 K (± 0.1)。

D.5.2.3 空扫次数(DS): 4次。

D.5.2.4 扫描次数(NS): 32次。

D.5.2.5 谱宽(SW): 20.5525 ppm。

D.5.2.6 采样点数(TD): 65536。

D.5.2.7 接收增益(RG): 16。

D.5.2.8 弛豫延迟(D1): 4 s。

D.5.2.9 以3-(三甲基硅基)氘代丙酸钠(TSP, $\delta=0$)作为化学位移的零点。

D.5.2.10 采用合适的脉冲序列用于乙醇($\delta=1.2$ ppm 和 3.6 ppm)和水($\delta=4.8$ ppm)的信号抑制。

D.5.3 核磁共振检测步骤

D.5.3.1 打开仪器,将装有待测试样的样品管置于NMR磁体内。

D.5.3.2 设置待测样品温度为300K,测样前温度需等待至少5 min至仪器稳定。

D.5.3.3 锁场与调谐。

D.5.3.4 调用合适的脉冲序列。

D.5.3.5 匀场。

D.5.3.6 优化并设定谱宽、脉宽、等待时间、采样点数、采样时间和扫描次数等测量参数。

D.5.3.7 核磁共振信号采集。

D.5.3.8 将仪器所测谱图保存,并记录仪器状态和测量数据。

D.5.3.9 信号的预处理:核磁谱图基线校正、相位校正和化学位移的定标等。

D.6 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定 ^1H NMR指纹图谱特征峰积分结果的绝对差值不超过其算术平均值的10%。

附录 D
葡萄酒—维核磁共振氢谱

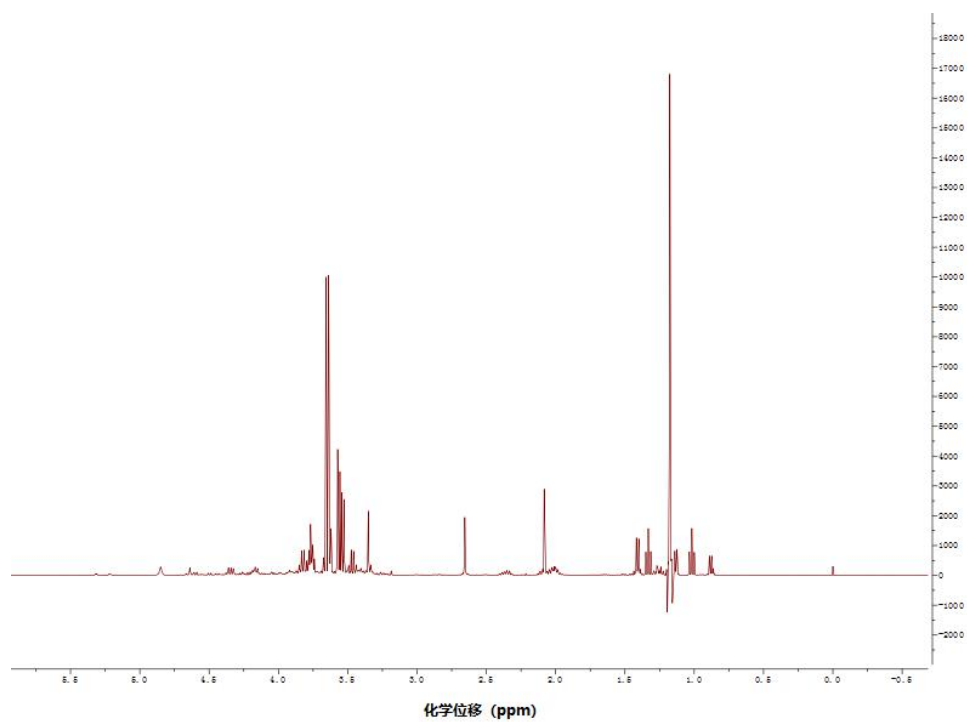


图 D.1 红葡萄酒样品的¹H NMR指纹谱图（0~5.5 ppm）