




Compendium of International
Methods of Wine and Must Analysis

OIV国际葡萄酒与葡萄汁 分析方法大全

李志勇 刘青 编译


 中国标准出版社



Compendium of International
Methods of Wine and Must Analysis

OIV国际葡萄酒与葡萄汁 分析方法大全

李志勇 刘青 编译

 中国标准出版社

OIV Copyright: The International Organisation of Vine and Wine (OIV) declines all responsibility for involuntary errors or omissions that might occur, despite care taken in the translation. Reproduction of texts published in this work is forbidden. The texts are the property of the OIV, which has the exclusive right to reproduce and translate these texts throughout, the world. Only texts published in the official languages of the OIV are to be referred to and are authentic in the case of dispute for the purposes of use and/or interpretation of the methods described therein.

图书在版编目 (CIP) 数据

OIV国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全/李志勇,刘青编译. —北京: 中国标准出版社, 2015.10
ISBN 978-7-5066-7831-5

I. ①O… II. ①李… ②刘… III. ①葡萄酒—食品分析—分析方法 ②葡萄汁—食品分析—分析方法
IV. ①TS262.6 ②TS255.44

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第005900号

出版发行	中国质检出版社 中国标准出版社	出版发行	中国标准出版社秦皇岛印刷厂
	北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)	版次	2015年10月第一版 2015年10月第一次印刷
	北京市西城区三里河北街16号(100045)	开本	787mm×1092mm 1/16
	总编室: (010) 68533533	印张	53.00
	发行中心: (010) 51780238	字数	1238千字
	读者服务部: (010) 68523946	书号	ISBN 978-7-5066-7831-5
		定价	160.00元

网 址 <http://www.spc.net.cn>

如有印刷装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 68510107

编译委员会

主 编 李志勇 刘 青

副 主 编 郭德华 钟其顶 相大鹏 谢 力 陈文锐 蒲 民
陈胤瑜 李晓虹 李建军 韦晓群 李 荀 朱克卫
田 玲 刘朝霞 凌 莉 易 蓉 邹志飞 曾 静

编译人员 (以姓氏笔画为序)

仇 凯 王传现 王 京 王道兵 韦晓群 田 玲
任立峰 伍颖仪 关丽军 刘传贺 刘 明 刘 青
刘 津 刘 夏 刘朝霞 刘 超 朱克卫 阮雄杰
吴竹英 吴美琪 张洋子 时逸吟 李 双 李志勇
李国辉 李建军 李 荀 李晓红 李 敏 李 勤
李 蓉 李 楠 邵仕萍 张子皓 林梅芳 邹志飞
陈文锐 陈永红 陈 立 陈秀明 陈楠楠 孟 镇
何吉子 庞世琦 易敏英 易 蓉 武玉艳 郑思珩
郑 恩 郑 森 宦 萍 相大鹏 钟其顶 倪昕路
凌 莉 奚星林 席 静 翁文川 谈颖德 郭晶晶
郭德华 高东微 高红波 徐家亮 宿景霞 梁瑞婷
曾 静 曾广丰 谢 力 蒲 民 廖冰君 潘丙珍
黎海超 戴 祁

译者序

随着经济发展和人民生活水平的不断提高,中国葡萄酒消费迅猛增长,进口葡萄酒大量涌进,使中国加速成为国际葡萄酒市场的重要组成部分,国际规则也越来越深远地影响着中国葡萄酒的发展。中国葡萄酒行业与国际接轨、沿着国际化的道路发展已经成为必然。面对中国葡萄酒市场国际化浪潮,采用与国际接轨的统一的分析检测方法对葡萄酒酿造和加工过程中原料、半成品和终产品进行分析检测和质量控制,显得更加迫切和必要。

国际葡萄与葡萄酒组织(OIV, International Organization of vine and wine)编写的《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全》(Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis)是国际葡萄酒行业分析检测领域的权威经典之作,收集整理了葡萄酒和葡萄汁的物理、化学和微生物检测方法及相关规定的有关规定。方法包括标准方法、基准方法、认可的替代方法和辅助方法共四类,达140多项,适合在葡萄酒生产和加工过程中对原料、半成品和终产品进行全过程分析。欧盟法规 EC No 479/2008 和 EC No 606/2009 规定, OIV 所推荐和公布的方法,适用于葡萄栽培和酿造过程的质量控制,要求所有成员国遵照执行。它同《国际葡萄酒工艺法规》(International Code of Oenological Practices)和《国际酿酒药典》(International Oenological Codex)一起,组成了葡萄酿造行业完善、法定和实用的科学体系。

本书根据“Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis”(2014版)翻译编辑而成。主要包括六个部分,分别为葡萄酒和葡萄汁分析检测方法、检测证书、各种物质最大可接受限量、建议、实验室质量保证、糖含量(精馏浓缩葡萄汁)特殊检测方法。本书较之前翻译的版本不同之处在于:其收集整理了 OIV 377/2009 修订的一批方法,增加了新近出现的农药残留、塑化剂、赭曲霉毒素 A、纳他霉素、羟甲基糠醛等有毒有害物质的

分析方法,以及不断更新的检测手段如同位素比质谱仪(IRMS)和点特异性天然同位素分馏核磁共振(SNIFNMR)、电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)和毛细管电泳(CE)等技术的相关分析方法。同时为体现葡萄酒实验室质量保证的重要性,本书还将相关内容单独作为一个部分,重点进行了阐述。

由于原著收录的文件发布时间不同,体例格式不尽相同,量和单位的用法也与我国允许使用的法定量和单位有所不同。为保持原著的完整性,我们保留了原著中的体例格式、量和单位的用法。同时,对原著中的部分错漏进行了修改。

本书可供从事食品,尤其是葡萄酒质量控制、葡萄酒检验的技术人员、葡萄酒检测科技工作者等参考,同时也可作为葡萄酒生产企业、大专院校、相关的食品企业和科研院所,以及海关、检验检疫等政府部门的技术人员用书。

本书在翻译和出版过程中,得到了广东出入境检验检疫局检验检疫技术中心、中国食品发酵工业研究院、上海出入境检验检疫局、国家质量监督检验检疫总局进出口食品安全局、国家质量监督检验检疫总局标准与技术法规中心、黄埔出入境检验检疫局、新疆出入境检验检疫局、北京出入境检验检疫局、中山出入境检验检疫局的大力协助和支持,烟台张裕葡萄酿酒股份有限公司总工程师、中国首届酿酒大师李记明博士欣然为本书撰序,在此一并表示衷心的感谢。

由于翻译编写工作时间紧、译者水平所限,译不达意之处乃至错误在所难免,若本书文稿与原文有异,概以英文原文为准。希望广大读者、专家在使用过程中提出宝贵意见,使本书得以不断完善和提高。

编译者

2015年6月

序 一

《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全》(Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis)于1962年首次出版,并于1965年、1972年、1978年、1990年和2000年修订再版,每次修订再版都增加了历年由分委会提出并经全体委员会批准的补充性文件。

本次出版的《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全》(2014版)包括了所有自2000年以来,由OIV(国际葡萄与葡萄酒组织)各成员国代表组成的全体委员会批准的所有文件的修订。

本书在保持葡萄酒检测方法一致性方面具有重要的意义,许多葡萄酒的生产国引用该书的定义和方法作为本国的法规,因此本书也在便利国际贸易方面起着相当重要的作用。

我在此特别要感谢广东出入境检验检疫局检验检疫技术中心的专家们,正是由于他们的辛勤努力,才使得本书能够在中国——这个葡萄酒历史悠久的国家得以翻译出版和发行。希望中国葡萄酒专家能够通过本书更多地了解OIV。相信本书的出版和发行能够进一步增进彼此的友谊,并扩大我们在葡萄酒领域的合作和交流。

国际葡萄与葡萄酒组织主席

Federico Castellucci

Foreword

The OIV Compendium of International Methods of Wine Analysis was first published in 1962 and republished in 1965, 1972, 1978, 1990 and 2000; each time it included additional material as approved by the General Assembly and produced each year by the relevant Sub-Commission.

This edition of *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis* includes all material and methods as approved by the General Assembly of representatives of the member Governments of the OIV, revised and amended since 2000.

Some countries consider that the methods of analysis, recognised as reference methods and published by the OIV, shall prevail as reference methods for the determination of the analytical composition of the wine in the context of control operations.

The Compendium plays a major part in harmonising methods of analysis. Many vine-growing countries have introduced its definitions and methods into their own regulations and thus contribute to facilitating international trade.

I would particularly like to thank the managers and staff of the Guangdong IQTC for works and commitment they put into this important translation work of the OIV Compendium of International Methods of Wine Analysis.

With their hard work, the book can be published in China, the country with a long history of wine. It is hopeful that through this book, Chinese experts will learn more of OIV. We believe that the publication and distribution of the book will promote our friendship and expand our cooperation in the field of wine analysis.



序 二

随着我国经济的不断发展和国际化进程推进,中国葡萄酒进出口贸易以及国内消费量都以喜人的势头迅猛增长。面对不断涌现出的葡萄酒品质安全及质量控制的新情况和新问题,采用与国际接轨的统一的分析检测方法对葡萄酒酿造和加工过程进行分析检测和质量控制,对葡萄酒分析工作者显得更加迫切和必要。

今天,我非常欣慰地看到,国际葡萄与葡萄酒组织(OIV)出版的国际葡萄酒行业分析检测领域的权威经典之作——《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全》(2014版),在广东出入境检验检疫局、中国食品发酵工业研究院和上海出入境检验检疫局等单位一批年轻的葡萄酒工作者的辛勤努力下,终于出版了。本人有幸与马佩选同志合作编译了2005版《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法汇编》,受到国内业界的一致好评。相信本版本的出版发行一定会给国内的葡萄酒工作者带来更大的便利,也希望本书能够为我国葡萄酒行业的可持续发展和标准化工作作出积极的贡献。

本书囊括了葡萄酒的物理、化学和微生物等分析方法共140多项。增订了新修订的一批方法,如农药残留、邻苯二甲酸酯类、赭曲霉毒素A等有毒有害物质的分析方法,以及同位素比质谱仪(IRMS)和点特异性天然同位素分馏核磁共振(SNIFNMR)等最新的检测技术;并单独一部分重点阐述了葡萄酒实验室质量保证体系。本书可作为葡萄酒生产企业、大专院校、相关的食品企业、海关、质检等部门的技术人员参考用书。

在此衷心地祝愿国内年轻的葡萄酒工作者们在这一领域能够大有作为!



2015年6月

原文前言

《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全》(Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis)于1962年首次出版,并于1965、1972、1978、1990和2000年修订再版,每次修订再版都增加了历年由分委会提出,并经全体委员会批准的补充性文件。

本次出版的《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全》(2014版)包括了所有自2000年以来,由OIV各成员国代表组成的全体委员会批准的所有文件的修订。

本书在保持葡萄酒检测方法一致性方面具有重要的意义,许多葡萄酒生产国引用该书的定义和方法作为自己国家的法规。

欧盟法规 EC No 479/2008 规定,对法规中所涵盖的产品成分进行分析,以及检查产品的加工过程是否违反葡萄酒酿造规范的原则所使用的方法,必须是 OIV 推荐和公布的《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全》中的方法。

欧盟法规 EC No 606/2009 进一步明确声明,OIV《国际葡萄酒与葡萄汁分析方法大全》中所列出的分析方法将会在成员国内部出版,并适用于葡萄栽培和酿造的全过程控制。

欧盟认可该书中所有的检测方法,并用此来规范各成员国的相关事宜,并确保和 OIV 保持密切的合作。

此外,本书也在方便国际贸易方面起着相当重要的作用。它同《国际葡萄酿造工艺法规》(International Code of Oenological Practices)和《国际葡萄酿造药典》(International Oenological Codex)一起,组成了葡萄酿造行业完善、合法和实用的科学体系。

目 录

名 称	编 号	方法类型
OIV 分析方法的格式 / 1		
第 1 部分 葡萄酒和葡萄汁检测方法		
第 1 章 定义和基本原则		
总论 / 7	OIV-MA-AS1-02	
检测方法的分类 / 8	OIV-MA-AS1-03	
基质对金属含量的影响 / 9	OIV-MA-AS1-04	
第 2 章 物理检测		
20℃密度和比重(A) / 10	OIV-MA-AS2-01A	I
20℃密度和比重(B) / 37	OIV-MA-AS2-01B	IV
折光法测定葡萄、葡萄汁、浓缩葡萄汁和精馏浓缩葡萄汁中含糖量 / 43	OIV-MA-AS2-02	I
总干浸出物(重量法) / 76	OIV-MA-AS2-03A	I
总干浸出物(密度法) / 79	OIV-MA-AS2-03B	IV
灰分 / 82	OIV-MA-AS2-04	I
碱性灰分 / 83	OIV-MA-AS2-05A	IV
氧化-还原电位 / 84	OIV-MA-AS2-06	IV
颜色特征 / 86	OIV-MA-AS2-07B	IV
浊度 / 94	OIV-MA-AS2-08	IV
福林-肖卡指数 / 98	OIV-MA-AS2-10	IV
颜色特征[CIE 1976(L* a* b*)色空间法] / 100	OIV-MA-AS2-11	I
稳定同位素质谱法测定葡萄酒和葡萄汁中水的 ¹⁸ O/ ¹⁶ O比值 / 110	OIV-MA-AS2-12	II
过筛法测定橡木片尺寸 / 116	OIV-MA-AS2-13	I

名 称	编 号	方法类型
第 3 章 化学检测		
3.1 有机类化合物		
3.1.1 糖类		
还原性物质 / 118	OIV-MA-AS311-01A	IV
葡萄糖和果糖(酶法) / 122	OIV-MA-AS311-02	II
高效液相色谱法测定含糖量 / 126	OIV-MA-AS311-03	II
稳定葡萄汁法测定添加蔗糖 / 135	OIV-MA-AS311-04	
核磁共振法(SNIF-NMR/RMN-FINS)测定葡萄汁、浓缩葡萄汁、精馏浓缩葡萄汁以及葡萄酒中的糖分发酵产生的乙醇中氘的分布情况 / 136	OIV-MA-AS311-05	II
气相色谱法测定干型葡萄酒中糖类和残留糖转化的多元醇 / 150	OIV-MA-AS311-06	IV
pH 示差法联合测定葡萄酒中的葡萄糖和果糖 / 154	OIV-MA-AS311-07	III
pH 示差法测定葡萄酒中的葡萄糖、果糖和蔗糖总量 / 162	OIV-MA-AS311-08	IV
3.1.2 醇类		
酒精度(比重瓶测定法、振荡器法、流体静力学平衡法) / 168	OIV-MA-AS312-01A	I
酒精度(液体比重法、折射法) / 191	OIV-MA-AS312-01B	IV
甲醇(气相色谱法) / 222	OIV-MA-AS312-03A	IV
甲醇(比色法) / 223	OIV-MA-AS312-03B	IV
甘油和 2,3-丁二醇 / 225	OIV-MA-AS312-04	IV
甘油(酶法) / 229	OIV-MA-AS312-05	IV
稳定同位素比质谱仪测定葡萄汁、浓缩葡萄汁或葡萄发酵产生乙醇 ¹³ C/ ¹² C 的同位素比 / 232	OIV-MA-AS312-06	II
气相色谱燃烧或高效液相色谱与同位素比质谱仪联用法测定葡萄酒中甘油 ¹³ C/ ¹² C 的比例(GC-C-IRMS 或 HPLC-IRMS) / 239	OIV-MA-AS312-07	IV

名 称	编 号	方法类型
3.1.3 酸类		
总酸 / 248	OIV-MA-AS313-01	I
挥发酸 / 251	OIV-MA-AS313-02	I
固定酸 / 256	OIV-MA-AS313-03	I
有机酸(高效液相色谱法) / 257	OIV-MA-AS313-04	IV
酒石酸(重量法) / 260	OIV-MA-AS313-05A	IV
乳酸(酶法) / 263	OIV-MA-AS313-07	II
柠檬酸(化学法) / 267	OIV-MA-AS313-08	IV
柠檬酸(酶法) / 270	OIV-MA-AS313-09	II
总苹果酸 / 273	OIV-MA-AS313-10	IV
L-苹果酸(酶法) / 275	OIV-MA-AS313-11	II
D-苹果酸(酶法) / 278	OIV-MA-AS313-12A	II
D-苹果酸(酶法)(低含量) / 283	OIV-MA-AS313-12B	IV
L-抗坏血酸(荧光光度法) / 285	OIV-MA-AS313-13A	IV
山梨酸(荧光光度法) / 287	OIV-MA-AS313-14A	IV
山梨酸(气相色谱法) / 289	OIV-MA-AS313-14B	IV
山梨酸(薄层色谱法) / 291	OIV-MA-AS313-14C	IV
pH / 293	OIV-MA-AS313-15	I
有机酸和无机阴离子(离子色谱法) / 295	OIV-MA-AS313-16	IV
莽草酸 / 299	OIV-MA-AS313-17	II
山梨酸(毛细管电泳法) / 304	OIV-MA-AS313-18	IV
有机酸和硫酸盐(毛细管电泳法) / 307	OIV-MA-AS313-19	II/III
山梨酸、苯甲酸和水杨酸 / 317	OIV-MA-AS313-20	IV
偏酒石酸 / 320	OIV-MA-AS313-21	IV
L-抗坏血酸和 D-异抗坏血酸 / 322	OIV-MA-AS313-22	II
L-酒石酸的鉴定(¹⁴ C 活度法) / 328	OIV-MA-AS313-23	IV
3.1.4 气体		
二氧化碳 / 335	OIV-MA-AS314-01	II

名 称	编 号	方法类型
起泡葡萄酒压力的测定 / 341	OIV-MA-AS314-02	I
同位素比质谱仪测定起泡葡萄酒中二氧化碳 ¹³ C/ ¹² C 同位素比值(IRMS 法) / 344	OIV-MA-AS314-03	II
二氧化碳(压力计法) / 357	OIV-MA-AS314-04	II
3.1.5 其他有机类化合物		
乙醛 / 368	OIV-MA-AS315-01	IV
乙酸乙酯(气相色谱法) / 370	OIV-MA-AS315-02A	IV
乙酸乙酯(滴定法) / 371	OIV-MA-AS315-02B	IV
锦葵花色素二糖苷 / 372	OIV-MA-AS315-03	IV
氨基甲酸乙酯 / 375	OIV-MA-AS315-04	II
羟甲基糠醛(比色法) / 378	OIV-MA-AS315-05A	IV
羟甲基糠醛(高效液相色谱法) / 380	OIV-MA-AS315-05B	IV
氰化物衍生物 / 381	OIV-MA-AS315-06	II
人工合成甜味剂(糖精、甜蜜素、甘素和 P-4000) / 383	OIV-MA-AS315-07A	IV
人工合成甜味剂(糖精、甜蜜素和甘素) / 386	OIV-MA-AS315-07B	IV
人工着色剂 / 388	OIV-MA-AS315-08	IV
二甘醇 / 391	OIV-MA-AS315-09	IV
赭曲霉毒素 A / 393	OIV-MA-AS315-10	II
花青素 / 402	OIV-MA-AS315-11	II
植物蛋白 / 412	OIV-MA-AS315-12	IV
溶菌酶(高效液相色谱法) / 417	OIV-MA-AS315-14	IV
3-甲氧基丙烷-1,2-二醇和环二甘油 / 421	OIV-MA-AS315-15	II
2,4,6-三氯苯甲醚 / 430	OIV-MA-AS315-16	IV
多氯苯酚和多氯苯甲醚 / 433	OIV-MA-AS315-17	IV
生物胺 / 439	OIV-MA-AS315-18	II
谷胱甘肽 / 448	OIV-MA-AS315-19	IV
α -二羰基化合物(高效液相色谱衍生化法)/ 452	OIV-MA-AS315-20	IV

名 称	编 号	方法类型
α -二羰基化合物(气相色谱衍生化法) / 458	OIV-MA-AS315-21	IV
羧甲基纤维素(纤维素羧甲醚) / 463	OIV-MA-AS315-22	IV
蛋白澄清剂潜在过敏残基 / 467	OIV-MA-AS315-23	标准
溶菌酶(高效毛细管电泳法) / 472	OIV-MA-AS315-24	IV
3.2 非有机类化合物		
3.2.1 阴离子		
总溴 / 475	OIV-MA-AS321-01	IV
氯化物 / 478	OIV-MA-AS321-02	II
氟化物 / 481	OIV-MA-AS321-03	II
总磷 / 488	OIV-MA-AS321-04	IV
硫化物(重量法) / 490	OIV-MA-AS321-05A	II
3.2.2 阳离子		
铵离子 / 492	OIV-MA-AS322-01	IV
钾(AAS法) / 495	OIV-MA-AS322-02A	II
钾(火焰光度法) / 497	OIV-MA-AS322-02B	III
钠(AAS法) / 499	OIV-MA-AS322-03A	II
钠(火焰光度法) / 501	OIV-MA-AS322-03B	III
钙(AAS法) / 503	OIV-MA-AS322-04	II
铁(AAS法) / 505	OIV-MA-AS322-05A	IV
铁(比色法) / 506	OIV-MA-AS322-05B	IV
铜(AAS法) / 508	OIV-MA-AS322-06	IV
镁(AAS法) / 510	OIV-MA-AS322-07	II
锌(AAS法) / 511	OIV-MA-AS322-08	IV
银(AAS法) / 512	OIV-MA-AS322-09	IV
镉(AAS法) / 514	OIV-MA-AS322-10	IV
铅(标准方法) / 516	OIV-MA-AS322-12	II
ICP-AES法测定葡萄酒中的金属元素 / 533	OIV-MA-AS322-13	III

名 称	编 号	方法类型
3.2.3 其他非有机类化合物		
砷(AAS法) / 546	OIV-MA-AS323-01A	IV
砷 / 549	OIV-MA-AS323-01B	IV
总氮(杜马法) / 551	OIV-MA-AS323-02A	II
总氮 / 554	OIV-MA-AS323-02B	IV
硼 / 556	OIV-MA-AS323-03	IV
二氧化硫(滴定法) / 558	OIV-MA-AS323-04A	II
二氧化硫(碘量法) / 561	OIV-MA-AS323-04B	IV
二氧化硫(分子量法) / 563	OIV-MA-AS323-04C	IV
二氧化硫(葡萄汁) / 567	OIV-MA-AS323-05	IV
汞(原子荧光法) / 568	OIV-MA-AS323-06	IV
ICP-MS法进行多元素分析 / 572	OIV-MA-AS323-07	II
QuEChERS法测定葡萄酒中的农药残留 / 584	OIV-MA-AS323-08	II
纳他霉素 / 596	OIV-MA-AS323-09	IV
邻苯酸二甲酯 / 611	OIV-MA-AS323-10	IV
第4章 微生物检验		
微生物检验 / 619	OIV-MA-AS4-01	IV
防腐剂和发酵抑制剂 / 645	OIV-MA-AS4-02A	IV
防腐剂和发酵抑制剂(山梨酸、苯甲酸、对氯苯甲酸、水杨酸和对羟基甲酸及其酯) / 647	OIV-MA-AS4-02B	IV
防腐剂和发酵抑制剂(乙酸单卤代衍生物) / 649	OIV-MA-AS4-02C	IV
防腐剂和发酵抑制剂(焦碳酸酯) / 651	OIV-MA-AS4-02D	IV
防腐剂和发酵抑制剂(脱氢乙酸) / 654	OIV-MA-AS4-02E	IV
防腐剂和发酵抑制剂 / 656	OIV-MA-AS4-02F	IV
定量PCR技术对葡萄酒中野生酵母计数 / 659	OIV-MA-AS4-03	IV
第5章 其他检验		
强化葡萄汁和强化甜葡萄酒的区别 / 668	OIV-MA-AS5-01	IV

名 称	编 号	方法类型
第 2 部分 分析证书		
分析方法应用原则 / 673	OIV-MA-B1-01	
分析证书 / 674	OIV-MA-B1-02	
第 3 部分 各种物质最大可接受限量		
葡萄酒中各种物质最大可接受限量 / 677	OIV-MA-C1-01	
第 4 部分 建议		
葡萄糖酸 / 681	OIV-MA-D1-01	
过度压榨葡萄酒的特点 / 682	OIV-MA-D1-02	
葡萄酒中钠离子和氯离子浓度 / 683	OIV-MA-D1-03	
第 5 部分 实验室质量控制		
有效性原则 / 687	OIV-MA-AS1-05	
实验室间比对试验 / 688	OIV-MA-AS1-07	
方法的可靠性 / 699	OIV-MA-AS1-08	
实验室间比对计划的设计、实施和解释方案 / 704	OIV-MA-AS1-09	
分析方法的检出限和定量限评估 / 715	OIV-MA-AS1-10	
分析化学实验室内部质量控制的协调性原则 / 718	OIV-MA-AS1-11	
分析方法评价实用指南 / 731	OIV-MA-AS1-12	
单个实验室分析方法评价协调性原则 / 785	OIV-MA-AS1-13	
测量不确定度的建议 / 801	OIV-MA-AS1-14	
回收率校正的建议 / 803	OIV-MA-AS1-15	
第 6 部分 糖含量(精馏浓缩葡萄汁)特殊检测方法		
电导率 / 807	OIV-MA-F1-01	IV

名 称	编 号	方法类型
高效液相色谱法测定羟甲基糠醛 / 809	OIV-MA-F1-02	IV
浓缩葡萄汁和葡萄糖液(或精馏浓缩葡萄汁)中的酒精度的检测方法 / 811	OIV-MA-F1-03	IV
高效液相色谱法测定蔗糖 / 815	OIV-MA-F1-04	IV
总酸 / 817	OIV-MA-F1-05	IV
pH / 819	OIV-MA-F1-06	IV
二氧化硫 / 821	OIV-MA-F1-07	IV
色度 / 823	OIV-MA-F1-08	IV
总阳离子 / 824	OIV-MA-F1-09	I
电热原子吸收光谱法测定铅含量 / 826	OIV-MA-F1-10	IV
电感耦合等离子体质谱法测定铅含量 / 830	OIV-MA-F1-11	IV

OIV 分析方法的格式

引自 ISO 78-2:1999。

1 标题

2 介绍

(可选)

3 范围

简要说明化学分析方法并特别指出适用的产品。

4 定义

5 原理

准确说明所使用方法的基本步骤和基本原则。

6 试剂和材料

应列出所有的测试过程中使用的试剂和材料及其特性,如有必要,标明其纯度。

应列出:

市售产品的状态;溶液的浓度;标准滴定溶液;标准参比溶液;标准溶液;标准色泽对比溶液。

注:每个试剂应有一个特定的编码。

7 设备

列出所有试验期间使用的设备和仪器的名称及其特征。

8 取样(样品的制备)

应列出:

抽样程序;试验样品的制备。

9 步骤

简明扼要地描述每一个操作步骤。

本条款一般包括以下的分条款:

测试部分:提供从样品制备成测试溶液的所有必要信息。

测定或测试:准确描述操作步骤,以便理解和应用。

校准(如有必要)。

10 计算(结果)

表明结果计算的方法。得到结果的单位、所用的公式、数学符号的含义以及小数位数应准确无误。

11 精密度(实验室间验证)

精密度数据应当包括：

实验室的数量；浓度平均值；重复性和再现性；重复性和再现性的标准偏差；参考文献，并包括已公布的实验室间比对测试结果。

12 附件

精密度附件、统计数据 and 来自实验室间比对试验结果的其他数据附件。

13 参考文献

附件

精 密 度

本附件特别表明：

——重复性声明；

——再现性声明。

统计数据是来自实验室间比对实验结果的其他数据附件。

统计数据是来自实验室间比对试验结果的其他数据结果可在资料性附录列出。

统计结果列表示例：

样品标识	A	B	C
参与实验室数目			
测试结果数目			
平均值(g/100g 样品)			
真值或公认值(g/100g)			
重复性标准偏差(S_r)			
重复性的变异系数			
重复性限(r)($2.8 \times S_r$)			
再现性标准偏差(S_R)			
再现性变异系数			
再现性限(R)($2.8 \times S_R$)			

虽然没有必要列出表中所列出的所有数据,但建议至少包括以下数据：

——实验室的数量；

——浓度的平均值；

——重复性标准偏差；

——再现性标准偏差；

——已发布的实验室间比对测试结果的文档参照。



第1部分

葡萄酒和葡萄汁检测方法

第 1 章 定义和基本原则

OIV-MA-AS1-02

总 论

1. 进行化学和物理分析的葡萄酒必须是澄清的。如果葡萄酒浑浊,需用滤纸过滤或用密闭容器离心分离。
2. 每个测定方法的标准要在文件中说明。
3. 不同的度量单位(体积、质量、浓度、温度和压力等)应与 IUPAC(国际与应用化学联合会)的建议相符合。
4. 试剂和滴定溶液,除非另有规定,使用的化学品是“分析纯”,水是蒸馏水或等效纯度水。
5. 酶法和许多基于绝对吸光度的测定方法需要对分光光度计进行波长和吸光度校准。可以使用汞灯校准波长:239.94 nm,248.0 nm,253.65 nm,280.4 nm,302.25 nm,313.16 nm,334.15 nm,365.43 nm,404.66 nm,435.83 nm,546.07 nm,578.0 nm 和 1014.0 nm 进行校准。也可以使用商业参比溶液,或中性密度滤光片对吸光度进行校准。
6. 标出必要的参考文献及出版年份和页数等。其中标有 FV,OIV 的为分委员会文件。



检测方法的分类

(决议 Oeno 9/2000)

I类(标准方法)*:该类方法作为得到检测结果的唯一方法(例如酒精度、总酸度、挥发性酸度)。

II类(基准法)*:该类方法选自III类方法(见下文),当I类方法不能使用时,采用该类方法作为基准方法,一般在有争议或校准时使用(例如钾、柠檬酸)。

III类(认可的替代方法)*:该类方法为符合所有分析方法分委员会要求的标准方法,一般用于监测、检验和日常监管(例如,酶法测定葡萄糖和果糖)。

IV类(辅助方法)*:该类方法为常规或最新的检测技术方法,分析方法分委员会尚未指定相应的标准方法(例如,合成着色剂、氧化还原电位的测定)。

* 检测方法按照程序需经分析方法分委员会正式批准后方能生效。

基质对金属含量的影响

(决议 Oeno 5/2000)

通常情况下：

根据 1954 年 10 月 13 日国际标准化大会关于葡萄酒分析和评级方法第 4 段第 5 款的规定,按照国际葡萄酒分析方法和葡萄酒评级分委员会的要求,国际葡萄酒和葡萄汁分析方法大全中所列出的方法以及标准溶液,均适用于干型葡萄酒。因此,如果检测的样品中有糖或糖的衍生物,则检测方法有可能出现偏差。如有必要在分析过程中使用定量添加方法,则最少要添加三个不同含量水平的样本进行分析。当存在基质效应时,应采用定量添加的方式对金属(铁、铅、锌、银、镉和砷)进行检测。

第 2 章 物理检测

方法 OIV-MA-AS2-01A

方法类型 I

20°C 密度和比重(A)

1 定义

密度是指在 20°C 下单位体积葡萄酒或葡萄汁的质量。单位为 g/mL, 以 $\rho_{20^\circ\text{C}}$ 表示。20°C 的比重(或 20°C/20°C 相对密度)是指 20°C 下葡萄酒或葡萄汁与相同温度下水的密度之比(小数)。以 d_{20}^{20} 表示。

2 原理

采用以下几种方法测定 20°C 时的密度和相对密度:

- A. 密度瓶法, 或;
- B. 使用震荡池的电子密度法, 或;
- C. 流体静力平衡密度法。

注: 为保证测量准确度, 密度和相对密度都要用二氧化硫进行校正。

$$\rho_{20} = \rho'_{20} - 0.0006 \times c_s$$

式中: ρ_{20} ——校正密度;

ρ'_{20} ——实测密度;

c_s ——总二氧化硫浓度(g/L)。

3 样品前处理

如葡萄酒或葡萄汁样品中含有大量二氧化碳, 可取 250 mL 样品于 1 000 mL 锥形瓶中, 摇动以尽可能去除样品中的二氧化碳, 或通过装有 2 g 脱脂棉的漏斗减压过滤以去除二氧化碳。

4 密度瓶法测定 20°C 时的密度与相对密度(方法类型 I)

4.1 仪器

4.1.1 配有玻璃温度计的 100 mL Pyrex 玻璃密度瓶。温度计的量程 10°C ~ 30°C, 使用前需计量(见图 1)。其他等效密度瓶也适用。

密度瓶带有长 25 mm, 内径不超过 1 mm 的侧壁式溢流毛细管, 毛细管末端为锥形、磨口, 可与膨胀室的磨口玻璃锥形相连。

4.1.2 参比瓶: 与密度瓶外体积相同(相差 1 mL 以内), 质量等于装满相对密度为 1.01 液体[氯化钠溶液, 2%(m/V)]后的密度瓶质量。密度瓶配有保温装置。

隔热室与密度瓶外形要完全拟合。

4.1.3 双盘天平或单盘天平(精度为 0.1 mg)

4.2 密度瓶校准

校准密度瓶需测量以下参数：

- 密度瓶皮重；
- 20℃时密度瓶体积；
- 20℃时密度瓶装满水后质量。

4.2.1 双盘天平法

将皮重瓶置于天平左托盘,密度瓶(洁净且干燥,带侧管盖帽)置于右盘,右盘加减砝码使天平平衡,砝码总质量记为 p 克。

向密度瓶缓缓注入室温下的蒸馏水。插上温度计。小心擦拭密度瓶,并将其置于恒温室至温度稳定,并且使侧管中液面与侧管管口齐平,擦拭侧管并盖上侧管盖帽,温度计读数记为 $t^{\circ}\text{C}$ (如果需要,可对温度计刻度进行校正)。称量装满水后密度瓶的质量,加减砝码使天平再次平衡,砝码总质量记为 p' 克。

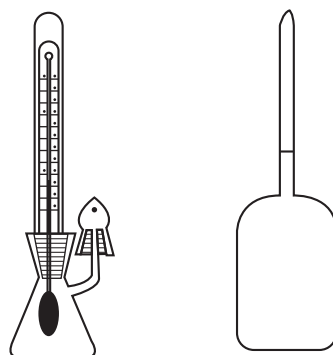


图1 密度瓶和参比瓶

计算*：

空密度瓶皮重：

$$\text{空密度瓶皮重} = p + m$$

其中 m 为密度瓶中干燥空气质量。

$$m = 0.0012 \times (p - p')$$

密度瓶体积(20℃)：

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = (p + m - p') \times F_t$$

其中 F_t 为常数,根据温度 $t^{\circ}\text{C}$ 查表 1 可得。

$V_{20^{\circ}\text{C}}$ 误差需在 ± 0.001 mL 以内。

纯水质量(20℃)：

$$M_{20^{\circ}\text{C}} = V_{20^{\circ}\text{C}} \times 0.998\ 203$$

其中 0.998 203 为 20℃ 纯水密度。

4.2.2 单盘天平法

测定：

- 洁净干燥密度瓶质量： P ；
- 如 4.2.1 所述 $t^{\circ}\text{C}$ 时装满水密度瓶质量： P_1 。
- 参比瓶质量 T_0 。

计算*：

空密度瓶皮重：

$$\text{空密度瓶皮重} = P - m$$

其中： m 为密度瓶中干燥空气质量。

$$m = 0.001\ 2 \times (P_1 - P)$$

* 实例见附录。



密度瓶体积(20℃):

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = [P_1 - (P - m)] \times F_1$$

其中 F_1 为常数,根据温度 $t^{\circ}\text{C}$ 查表 1 可得。

$V_{20^{\circ}\text{C}}$ 误差需在 ± 0.001 mL 以内。

纯水质量(20℃):

$$M_{20^{\circ}\text{C}} = V_{20^{\circ}\text{C}} \times 0.998\ 203$$

其中 0.998 203 为 20℃ 纯水密度。

4.3 测量方法*

4.3.1 双盘天平法

如 4.2.1 所述,密度瓶中装满制备的待测样品,然后称重。 $t^{\circ}\text{C}$ 时,天平平衡时其砝码总质量记为 p'' g。

密度瓶中液体的质量 = $p + m - p''$

$t^{\circ}\text{C}$ 时的表观密度为:

$$\rho_{t^{\circ}\text{C}} = \frac{p + m - p''}{V_{20^{\circ}\text{C}}}$$

根据被测样品属性使用合适的校正表计算 20℃ 的密度:干型葡萄酒(表 B. 2),浓缩或非浓缩葡萄汁(表 B. 3),甜酒(表 B. 4)。

20℃/20℃ 时样品的相对密度为 20℃ 下样品的密度除以 0.998 203。

4.3.2 单盘天平法*

参比瓶称重,质量记为 T_1 ;

计算 $dT = T_1 - T_0$ 。

测量时空密度瓶的质量 = $P - m + dT$ 。

如 4.2.1 所述将密度瓶装满待测样品, $t^{\circ}\text{C}$ 时质量记为 P_2 。

$t^{\circ}\text{C}$ 时密度瓶中液体的质量 = $P_2 - (P - m + dT)$ 。

则 $t^{\circ}\text{C}$ 时,样品的表观密度为:

$$\rho_{t^{\circ}\text{C}} = \frac{P_2(P - m + dT)}{V_{20^{\circ}\text{C}}}$$

同 4.3.1 使用合适的校正表计算 20℃ 时液体密度(干葡萄酒、浓缩或非浓缩葡萄汁、甜酒)

20℃/20℃ 时样品的相对密度为 20℃ 下样品的密度除以 0.998 203。

4.3.3 重复性限

干型葡萄酒和酒体饱满葡萄酒: $r = 0.000\ 10$

甜酒: $r = 0.000\ 18$

4.3.4 重现性限

干型葡萄酒和酒体饱满葡萄酒: $R = 0.000\ 37$

甜酒: $R = 0.000\ 45^*$

* 实例见附录。

5 使用带振荡池的电子密度法测定 20℃ 时的密度和相对密度

5.1 原理

使用带有振荡池的电子密度法测定葡萄酒密度的原理是测定装有样本的管子在设定的电磁场中的振荡频率。密度与振荡频率的关系如下方程：

$$\rho = T^2 \times \left(\frac{C}{4\pi^2 V} \right) - \left(\frac{M}{V} \right) \dots\dots\dots (1)$$

- 其中： ρ ——样本密度；
 T ——诱导振荡频率；
 M ——空管质量；
 C ——弹簧系数；
 V ——振荡样本的体积。

式(1)可简化为：

$$\rho = AT^2 - B \dots\dots\dots (2)$$

所以密度与频率的平方有线性关系。系数 A 和 B 对于每一个振荡器都是不同的，通过测量已知密度的流体的周期可以对此系数进行计算。

5.2 设备

- 电子震荡池密度计，包含以下要素：
 ——一个测量池，包含一个测量管和温控器；
 ——一个震荡系统和测定振荡频率的单元；
 ——计时器；
 ——数显或计算器。

密度计需置于足够稳定的桌面上，以免震动。

5.3 试剂和材料

5.3.1 参比流体

使用两种参比流体来调节密度计。两种参比流体的密度区间必须涵盖待测葡萄酒的密度。建议两种参比流体的密度差值应在 0.010 00 g/mL 以上。

在 20℃ ± 0.05℃ 条件下，参比流体密度为已知，且不确定度应小于 ± 0.000 05 g/mL。可以用于测定葡萄酒密度的参比流体有：

- 干燥空气(无污染)；
 ——双蒸水或等效分析纯度的水；
 ——乙醇水溶液，或已测得密度的酒；
 ——有国家标准的溶液，黏度小于 2 mm²/s。

5.3.2 清洁和干燥品

- 去污剂、酸等；
 ——有机溶剂：96%乙醇，丙酮等。



5.4 设备检查和校准

5.4.1 测量池的温度控制

测量管置于一个控温装置中。温度的偏差必须小于 $\pm 0.02^{\circ}\text{C}$ 。

因温度对测定结果有显著影响,测量池的温度必须严格控制。10%乙醇在 20°C 时密度为 $0.984\ 71\ \text{g/mL}$,在 21°C 时为 $0.984\ 47\ \text{g/mL}$,相差 $0.000\ 24\ \text{g/mL}$ 。

测定的温度是 20°C 。测量池的温度由温度计测定,温度计的分辨率应小于 0.01°C ,并符合国家标准。必须保证测定温度的不确定度小于 $\pm 0.07^{\circ}\text{C}$ 。

5.4.2 设备的校准

在第一次测量前,设备必须进行校准,然后每6个月或者当核查不满意时,需再次校准。使用两种参比流体可以计算出系数 A 和 B [公式(2)]。校准需参照设备的说明书进行。原则上,校准需使用干燥空气(将大气压力考虑在内)和纯水(双蒸水或电阻率大于 $18\ \text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 的微过滤水)。

5.4.3 验证校准

通过测量参比流体的密度对校准进行验证。

——每天执行空气密度验证法。理论密度和测量密度之差超过 $0.000\ 08\ \text{g/mL}$ 就意味着测量管被污染。必须执行清洁操作。清洁完成后,再次进行验证,如仍无法通过验证,则需对设备进行调节。

——也需要执行水密度验证法;如果密度和测量密度之差超过 $0.000\ 08\ \text{g/mL}$,则需对设备进行调节。

——如果池温验证有问题,可以使用密度与葡萄酒相近的乙醇溶液直接进行检查。

5.4.4 检查

如果参比溶液(不确定度为 $\pm 0.000\ 05\ \text{g/mL}$)的理论密度和测量密度之差大于 $0.000\ 08\ \text{g/mL}$,则需对装置校准进行检查。

5.5 步骤

操作者应确定测量池的温度是稳定的。测定池中的酒样必须是无气泡且均匀的。如果有内部光源可以用于检查是否有气泡,检查后要迅速关掉光源,以避免灯的照射对测定温度产生影响。如果设备只能给出频率,使用系数 A 和 B 来进行计算密度。

5.6 使用震荡池的密度测量方法的参数

n	3 800
min	0.991 87
max	1.012 33
r	0.000 11
$r\%$	0.011
S_r	0.000 038
R	0.000 25
S_R	0.000 091
$R\%$	0.025

n :选取数据的数量;

min:测量范围的低限;

max:测量范围的高限;

r :重复性限;

S_r :重复性标准偏差;

$r\%$:相对重复性($S_r \times 100/\text{平均值}$);

R :再现性限;

S_R :再现性标准偏差;

$R\%$:相对再现性($S_R \times 100/\text{平均值}$)。

6 流体静力天平测定 20℃ 时的密度和相对密度

6.1 原理

葡萄酒的密度可以使用流体静力天平来测定,流体静力天平是根据阿基米德定律设计的。阿基米德定律即浸入流体的物体会受到向上的与自身排开流体重量相同的力。

6.2 设备

6.2.1 单盘流体静力天平,精度为 1 mg。

6.2.2 体积至少为 20 mL 的浮子,用直径不大于 0.1 mm 的线连在一起。

6.2.3 有刻度的量筒,量筒的内径至少比浮子直径大 6 mm。

6.2.4 温度计(或温度探针),10℃~40℃,校准至±0.06℃。

6.2.5 砝码,通过校准。

6.3 试剂

除特别说明,只使用分析纯试剂和符合 ISO 3696:1987 要求的三级水。

浮子洗涤溶液(氢氧化钠溶液):将 30 g 氢氧化钠溶解在 100 mL 96% 的乙醇中。

6.4 步骤

每次测量后,浮子和量筒均需用蒸馏水洗涤,并用不脱落纤维的实验室用纸擦拭干净,然后用待测密度的溶液冲洗。设备稳定后应立即进行测定以保证蒸发导致的乙醇损失最少。

6.4.1 天平校准

尽管天平具有内部校准系统,流体静力天平仍需使用经过校准的砝码进行校准。

6.4.2 浮子校准

向量筒中加入双蒸水(电阻率大于 18.2 MΩ·cm 的微过滤水)至顶端刻度。水温在 15℃~25℃,理想状态为 20℃。

将浮子和温度计浸入水中,搅拌,记录液体的密度。如有必要,将密度读数调整至测定时温度对应的液体密度。

6.4.3 使用已知密度溶液进行验证

向量筒中加入已知密度的溶液至顶端刻度,溶液温度在 15℃~25℃,理想状态为 20℃。

将浮子和温度计浸入溶液中,搅拌,记录液体的密度和温度(ρ 和 t)。

6.4.4 如有必要,使用乙醇溶液密度表[附录 B 表 B.2]对 ρ 进行校正。

此方法测定的密度必须与先前测定的密度一致。

注意:这个已知密度的溶液可以用浮子校准的双蒸水代替。

6.4.5 测量葡萄酒的密度

将待测葡萄酒注入量筒至刻度。

将浮子和温度计浸入溶液中,搅拌,记录液体的密度和温度(ρ 和 t)。使用乙醇溶液密度表[附录 B 表 B.2]对 ρ 进行校正。

6.4.6 清洗浮子和量筒

将洗涤液注入量筒中,将浮子浸入洗涤液。浸泡 1 h,期间经常滚动浮子。先后用自来水和双蒸水冲洗。用不脱落纤维的实验室用纸擦拭。



6.5 使用流体静力学天平的测量密度方法的参数

n	4 347
min	0.991 89
max	1.012 29
r	0.000 25
S_r	0.000 090
$r\%$	0.025
R	0.000 67
S_R	0.000 24
$R\%$	0.067

n : 选取数据的数量;
 min: 测量范围的低限;
 max: 测量范围的高限;
 r : 重复性限;
 S_r : 重复性标准偏差;
 $r\%$: 相对重复性($S_r \times 100/\text{平均值}$);
 R : 再现性限;
 S_R : 再现性标准偏差;
 $R\%$: 相关再现性($S_R \times 100/\text{平均值}$)。

6.6 使用电子密度计法和流体静力学天平法测量密度结果的对比

使用密度在 0.992 g/L~1.102 g/mL 间的样本进行实验室间比对试验,得到重复性和再现性数据。将使用流体静力学天平法和电子密度计法测定的多个样本的密度和多个实验室间比对的重复性和重现性值进行比较。

6.6.1 样本

以工业生产规模每月准备不同密度和酒精度的葡萄酒,妥善存放并以盲样方式发送给参试实验室。

6.6.2 实验室

由意大利葡萄酒联合会(维罗纳,意大利)组织每月一次的实验室间比对试验。比对实验室依据 ISO 5725(UNI 9225)、AOAC、IUPAC 和 ISO 43 以及 ILAC G13 指南建立起来的国际化学分析实验室能力验证协议进行。

6.6.3 设备

6.6.3.1 电子流体静力天平(精确至 5 位小数),最好带有数据运算功能。

6.6.3.2 电子密度计,最好带有自动采样器。

6.6.4 分析

根据方法确认规则,每个样本连续测量两次取平均值以确定其酒精度。

6.6.5 结果

表 1 是使用流体静力天平的实验室的测量结果。

表 2 是使用电子密度计的实验室的测量结果。

6.6.6 结果评价

6.6.6.1 运用科克伦(Cochran's)和格拉布斯(Grubb's)检验法对实验结果进行检验,以确认单个系统误差($p < 0.025$)。

6.6.6.2 重复性限(r)和再现性限(R):根据实验的规程,重复性和再现性是基于剔除异常值后所剩余的实验数据计算得到的。当对一个新的方法进行评价时,通常没有已经确认的参考或者法定的方法可以用来进行精密度标准的比较。因此,通常用实验室间比对得到的精密度数据与 Horwitz 方程计算得到的预测精密度进行比较,以判断该方法在测定特定分析物浓度水平时是否足够精确。Horwitz 预测值的计算如下:

$$\text{RSDR} = 2^{(1-0.5 \lg C)}$$

C 为分析物中所测得的浓度(以小数形式表示,例如 1 g/100 g=0.01)。

Horrat 值(HoR)是在特定分析物浓度水平下,测定方法的实际精密度与由 Horwitz 方程所得到的预测精密度值之比。计算公式如下:

$$\text{HoR} = \text{RSDR}(\text{实际测量}) / \text{RSDR}(\text{Horwitz})$$

6.6.6.3 实验室内的精密度:Horrat 值为 1 时,表示实验室内的精确度满意,Horrat 值为 2 时,表示实验室内的精密度不满意,例如,对大部分的分析目标而言,方法变化过大或者使用的分析方法得到的值较预测值变化过大。Horrat 值也可以用来评价实验室间的精密度,可用下列公式进行估算:

$$\text{RSDr}(\text{Horwitz}) = 0.66 \text{RSDR}(\text{Horwitz}) (\text{假定估测值 } r = 0.66R)。$$

表 3 为实验室采用电子密度计与流体静力学天平测定密度值的对比。

6.6.6.4 精密度参数:表 4 为实验室自 2008 年 1 月至 2010 年 12 月,每个月测定密度的全部精密度参数。



表 1 流体静力学天平法(HB)

样本	平均值	总测量次数	选择测量次数	重复性	S _t	RSD _r	Hor	再现性	S _R	RSD _{Rcalc}	HoR	重复测量次数	CrD95
01/08	0.995 491	130	120	0.000 170	0.000 061	0.006 102	0.004 619	0.000 598	0.000 214	0.021 450	0.010 718	2	0.000 414
02/08	1.011 475	146	125	0.000 471	0.000 168	0.016 646	0.012 632	0.000 871	0.000 311	0.030 737	0.015 395	2	0.000 569
03/08	0.992 473	174	161	0.000 147	0.000 053	0.005 290	0.004 003	0.000 431	0.000 154	0.015 514	0.007 748	2	0.000 296
04/08	0.993 147	172	155	0.000 276	0.000 099	0.009 927	0.007 513	0.000 545	0.000 195	0.019 584	0.009 782	2	0.000 360
05/08	1.004 836	150	138	0.000 188	0.000 067	0.006 691	0.005 072	0.000 750	0.000 268	0.026 637	0.013 328	2	0.000 522
06/08	0.993 992	152	136	0.000 149	0.000 053	0.005 339	0.004 041	0.000 530	0.000 189	0.019 051	0.009 517	2	0.000 368
07/08	0.992 447	162	150	0.000 266	0.000 095	0.009 571	0.007 242	0.000 605	0.000 216	0.021 758	0.010 866	2	0.000 406
08/08	0.992 210	162	151	0.000 262	0.000 094	0.009 428	0.007 134	0.000 631	0.000 225	0.022 711	0.011 342	2	0.000 427
09/08	1.002 600	148	131	0.000 109	0.000 039	0.003 892	0.002 950	0.000 700	0.000 250	0.024 934	0.012 472	2	0.000 492
10/08	0.994 482	174	152	0.000 123	0.000 044	0.004 411	0.003 339	0.000 425	0.000 152	0.015 265	0.007 626	2	0.000 294
11/08	0.992 010	136	125	0.000 091	0.000 033	0.003 274	0.002 478	0.000 426	0.000 152	0.015 322	0.007 652	2	0.000 298
01/09	0.994 184	174	152	0.000 166	0.000 059	0.005 944	0.004 499	0.000 544	0.000 194	0.019 538	0.009 761	2	0.000 376
02/09	0.992 266	118	101	0.000 174	0.000 062	0.006 268	0.004 743	0.000 521	0.000 186	0.018 753	0.009 366	2	0.000 358
03/09	0.991 886	164	135	0.000 185	0.000 066	0.006 660	0.005 040	0.000 478	0.000 171	0.017 214	0.008 596	2	0.000 325
04/09	0.993 632	180	150	0.000 152	0.000 054	0.005 475	0.004 144	0.000 427	0.000 153	0.015 348	0.007 666	2	0.000 292
05/09	1.011 061	116	100	0.000 366	0.000 131	0.012 923	0.009 807	0.000 834	0.000 298	0.029 453	0.014 751	2	0.000 561
06/09	0.992 063	114	105	0.000 292	0.000 104	0.010 524	0.007 963	0.000 526	0.000 188	0.018 924	0.009 451	2	0.000 342
07/09	0.992 708	172	155	0.000 289	0.000 103	0.010 404	0.007 873	0.000 616	0.000 220	0.022 148	0.011 062	2	0.000 411
08/09	0.993 064	136	127	0.000 293	0.000 105	0.010 522	0.007 963	0.000 752	0.000 269	0.027 045	0.013 508	2	0.000 511
09/09	1.005 285	118	110	0.000 295	0.000 105	0.010 466	0.007 935	0.000 723	0.000 258	0.025 670	0.012 845	2	0.000 489
10/09	0.992 905	150	132	0.000 223	0.000 080	0.008036	0.006081	0.000 450	0.000 161	0.016 180	0.008 082	2	0.000 298



表 1 (续)

样本	平均值	总测量次数	选择测量次数	重复性	S _r	RSD _r	Hor	再现性	S _R	RSD _{Rcalc}	HoR	重复测量次数	CrD95
11/09	0.994 016	142	127	0.000 190	0.000 068	0.006 811	0.005 156	0.000 474	0.00 0169	0.017 028	0.008 506	2	0.000 321
01/10	0.994 734	170	152	0.000 213	0.000 076	0.007 629	0.005 775	0.000 541	0.000 193	0.019 410	0.009 698	2	0.000 367
02/10	0.993 177	120	110	0.000 221	0.000 079	0.007 947	0.006 014	0.000 580	0.000 207	0.020 857	0.010 418	2	0.000 395
03/10	0.992 799	148	136	0.000 228	0.000 081	0.008 192	0.006 200	0.001 516	0.000 541	0.054 526	0.027 234	2	0.001 066
04/10	0.995 420	172	157	0.000 264	0.000 094	0.009 487	0.007 182	0.000 629	0.000 225	0.022 554	0.011 269	2	0.000 424
05/10	1.002 963	120	108	0.000 709	0.000 253	0.025 233	0.019 124	0.001 367	0.000 488	0.048 668	0.024 345	2	0.000 899
06/10	0.992 546	120	113	0.000 174	0.000 062	0.006 251	0.004 730	0.000 544	0.000 194	0.019 557	0.009 767	2	0.000 374
07/10	0.992 831	174	152	0.000 300	0.000 107	0.010 803	0.008 175	0.000 698	0.000 249	0.025 096	0.012 534	2	0.000 470
08/10	0.993 184	144	130	0.000 180	0.000 064	0.006 467	0.004 895	0.000 595	0.000 213	0.021 398	0.010 688	2	0.000 411
09/10	1.012 293	114	103	0.000 227	0.000 081	0.007 991	0.006 065	0.001 459	0.000 521	0.051 460	0.025 777	2	0.001 025
10/10	0.992 289	154	136	0.000 639	0.000 228	0.022 986	0.017 393	0.000 703	0.000 251	0.025 312	0.012 642	2	0.000 381
11/10	0.994 649	130	112	0.000 290	0.000 104	0.010 420	0.007 888	0.000 529	0.000 189	0.018 983	0.009 484	2	0.000 345

表 2 电子密度计法(ED)

样本	平均值	总测量次数	选择测量次数	重复性	S _r	RSD _r	Hor	再现性	S _R	RSD _{Rcalc}	HoR	重复测量次数	CrD95
01/08	0.995 504	114	108	0.000 076	0.00 0027	0.002 709	0.002 051	0.000 157	0.000 056	0.005 636	0.002 816	2	0.000 105
02/08	1.011 493	132	125	0.000 192	0.000 069	0.006 784	0.005 148	0.000 444	0.000 158	0.015 658	0.007 843	2	0.000 299
03/08	0.992 491	138	118	0.000 075	0.000 027	0.002 683	0.002 030	0.000 275	0.000 098	0.009 878	0.004 933	2	0.000 191
04/08	0.993 129	132	120	0.000 123	0.000 044	0.004 425	0.003 349	0.000 286	0.000 102	0.010 297	0.005 143	2	0.000 193
05/08	1.004 892	136	116	0.000 093	0.000 033	0.003 289	0.002 494	0.000 478	0.000 171	0.016 979	0.008 496	2	0.000 335
06/08	0.994 063	142	123	0.000 056	0.000 020	0.002 005	0.001 518	0.000 178	0.000 063	0.006 379	0.003 187	2	0.000 122



表 2(续)

样本	平均值	总测量次数	选择测量次数	重复性	S _r	RSD _r	Hor	再现性	S _R	RSD _{Rcalc}	HoR	重复测量次数	CrD95
07/08	0.992 498	136	125	0.000 082	0.000 029	0.002 958	0.002 238	0.000 209	0.000 075	0.007 537	0.003 764	2	0.000 142
08/08	0.992 270	130	115	0.000 052	0.000 018	0.001 854	0.001 403	0.000 167	0.000 060	0.005 994	0.002 994	2	0.000 115
09/08	1.002 603	136	121	0.000 082	0.000 029	0.002 924	0.002 216	0.000 333	0.000 119	0.011 857	0.005 931	2	0.000 232
10/08	0.994 493	128	117	0.000 067	0.000 024	0.002 395	0.001 813	0.000 143	0.000 051	0.005 131	0.002 563	2	0.000 095
11/08	0.992 017	118	104	0.000 084	0.000 030	0.003 031	0.002 293	0.000 196	0.000 070	0.007 064	0.003 528	2	0.000 132
01/09	0.994 216	148	131	0.000 083	0.000 030	0.002 983	0.002 258	0.000 155	0.000 055	0.005 571	0.002 783	2	0.000 102
02/09	0.992 251	104	88	0.000 095	0.0000 34	0.003 410	0.002 580	0.000 285	0.000 102	0.010 245	0.005 117	2	0.000 196
03/09	0.991 875	126	108	0.000 127	0.000 045	0.004 578	0.003 464	0.000 207	0.000 074	0.007 442	0.003 717	2	0.000 132
04/09	0.993 654	134	114	0.000 117	0.000 042	0.004 190	0.003 171	0.000 204	0.000 073	0.007 342	0.003 667	2	0.000 132
05/09	1.011 035	128	104	0.000 239	0.000 085	0.008 436	0.006 402	0.000 355	0.000 127	0.012 554	0.006 288	2	0.000 221
06/09	0.992 104	116	106	0.000 101	0.000 036	0.003 618	0.002 738	0.000 317	0.000 113	0.011 409	0.005 698	2	0.000 218
07/09	0.992 720	144	140	0.000 158	0.000 056	0.005 682	0.004 300	0.000 292	0.000 104	0.010 492	0.005 240	2	0.000 191
08/09	0.993 139	110	102	0.000 118	0.000 042	0.004 224	0.003 197	0.000 360	0.000 129	0.012 958	0.006 472	2	0.000 248
09/09	1.005 276	112	108	0.000 110	0.000 039	0.003 907	0.002 962	0.000 352	0.000 126	0.012 513	0.006 262	2	0.000 243
10/09	0.992 912	122	111	0.000 071	0.000 025	0.002 537	0.001 920	0.000 212	0.000 076	0.007 632	0.003 812	2	0.000 146
11/09	0.994 031	128	118	0.000 072	0.000 026	0.002 578	0.001 952	0.000 164	0.000 059	0.005 888	0.002 942	2	0.000 110
01/10	0.994 752	144	136	0.000 077	0.000 028	0.002 777	0.002 102	0.000 179	0.000 064	0.006 414	0.003 205	2	0.000 120
02/10	0.993 181	108	98	0.000 147	0.000 053	0.005 289	0.004 003	0.000 169	0.000 061	0.006 088	0.003 041	2	0.000 095
03/10	0.992 665	140	127	0.000 171	0.000 061	0.006 168	0.004 668	0.000 238	0.000 085	0.008 556	0.004 273	2	0.000 145
04/10	0.995 502	142	128	0.000 118	0.000 042	0.004 214	0.003 190	0.000 232	0.000 083	0.008 325	0.004 160	2	0.000 153
05/10	1.002 851	130	119	0.000 120	0.000 043	0.004 256	0.0032 25	0.000 297	0.000 106	0.010 582	0.005 293	2	0.000 201



表 2(续)

样本	平均值	总测量次数	选择测量次数	重复性	S _r	RSD _r	Hor	再现性	S _R	RSD _{calc}	HoR	重复测量次数	CrD95
06/10	0.992 607	106	99	0.000 123	0.000 044	0.004 417	0.003 343	0.000 223	0.000 080	0.008 009	0.004 000	2	0.000 145
07/10	0.992 871	160	150	0.000 144	0.000 051	0.005 171	0.003 913	0.000 373	0.000 133	0.013 426	0.006 706	2	0.000 254
08/10	0.993 235	104	93	0.000 090	0.000 032	0.003 218	0.002 436	0.000 246	0.000 088	0.008 840	0.004 415	2	0.000 168
09/10	1.012 328	112	105	0.000 087	0.000 031	0.003 069	0.002 330	0.000 340	0.000 121	0.011 978	0.006 000	2	0.000 236
10/10	0.992 308	128	115	0.000 061	0.000 022	0.002 181	0.001 650	0.000 164	0.000 058	0.005 885	0.002 939	2	0.000 112
11/10	0.994 683	120	108	0.000 113	0.000 040	0.004 045	0.003 062	0.000 160	0.000 057	0.005 734	0.002 865	2	0.000 098

表 3 流体静力天平法(HB)和电子密度计法(ED)结果的对比

样本	密度——流体静力天平法			密度——电子密度计法				对比
	平均值	总测量次数	选择测量次数	样本	平均值	总测量次数	选择测量次数	
01/08	0.995 491	130	120	01/08	0.995 504	114	108	-0.000 013
02/08	1.011 475	146	125	02/08	1.011 493	132	125	-0.000 018
03/08	0.992 473	174	161	03/08	0.992 491	138	118	-0.000 018
04/08	0.993 147	172	155	04/08	0.993 129	132	120	0.000 018
05/08	1.004 836	150	138	05/08	1.004 892	136	116	-0.000 056
06/08	0.993 992	152	136	06/08	0.994 063	142	123	-0.000 071
07/08	0.992 447	162	150	07/08	0.992 498	136	125	-0.000 051
08/08	0.992 210	162	151	08/08	0.992 270	130	115	-0.000 060
09/08	1.002 600	148	131	09/08	1.002 603	136	121	-0.000 003
10/08	0.994 482	174	152	10/08	0.994 493	128	117	-0.000 011
11/08	0.992 010	136	125	11/08	0.992 017	118	104	-0.000 007
01/09	0.994 184	174	152	01/09	0.994 216	148	131	-0.000 031
02/09	0.992 266	118	101	02/09	0.992 251	104	88	0.000 015



表3(续)

样本	密度——流体静力天平法			密度——电子密度计法			对比	
	平均值	总测量次数	选择测量次数	样本	平均值	总测量次数		选择测量次数
03/09	0.991 886	164	135	03/09	0.991 875	126	108	0.000 011
04/09	0.993 632	180	150	04/09	0.993 654	134	114	-0.000 022
05/09	1.011 061	116	100	05/09	1.011 035	128	104	0.000 026
06/09	0.992 063	114	105	06/09	0.992 104	116	106	-0.000 041
07/09	0.992 708	172	155	07/09	0.992 720	144	140	-0.000 012
08/09	0.993 064	136	127	08/09	0.993 139	110	102	-0.000 075
09/09	1.005 285	118	110	09/09	1.005 276	112	108	0.000 009
10/09	0.992 905	150	132	10/09	0.992 912	122	111	-0.000 008
11/09	0.994 016	142	127	11/09	0.994 031	128	118	-0.000 015
01/10	0.994 734	170	152	01/10	0.994 752	144	136	-0.000 018
02/10	0.993 177	120	110	02/10	0.993 181	108	98	-0.000 005
03/10	0.992 799	148	136	03/10	0.992 665	140	127	0.000 134
04/10	0.995 420	172	157	04/10	0.995 502	142	128	-0.000 082
05/10	1.002 963	120	108	05/10	1.002 851	130	119	0.000 112
06/10	0.992 546	120	113	06/10	0.992 607	106	99	-0.000 061
07/10	0.992 831	174	152	07/10	0.992 871	160	150	-0.000 040
08/10	0.993 184	144	130	08/10	0.993 235	104	93	-0.000 052
09/10	1.012 293	114	103	09/10	1.012 328	112	105	-0.000 035
10/10	0.992 289	154	136	10/10	0.992 308	128	115	-0.000 019
11/10	0.994 649	130	112	11/10	0.994 683	120	108	-0.000 035
						平均	$\Delta(\text{HB-ED})$	-0.000 016
						标准偏差	$\Delta(\text{HB-ED})$	0.000 045

表 4 精密度参数

项目	流体静力天平(HB)	电子密度计(ED)
选择的测量次数	4 347	3 800
min	0.991 89	0.991 87
max	1.012 29	1.012 33
R	0.000 67	0.000 25
S_R	0.000 24	0.000 091
$R\%$	0.067	0.025
r	0.000 25	0.000 11
S_r	0.000 09	0.000 038
$r\%$	0.025	0.011



附录 A 实例

A.1 双盘天平密度瓶法

A.1.1 密度瓶标准化操作

A.1.1.1 称量干燥且洁净密度瓶的质量：

$$\text{皮重} = \text{密度瓶质量} + p$$

$$p = 104.945 \text{ 4g}$$

A.1.1.2 称量 $t^{\circ}\text{C}$ 时密度瓶装满水后的质量：

$$\text{皮重} = \text{密度瓶质量} + \text{水质量} + p'$$

$$p' = 1.239 \text{ 6 g}, t = 20.5^{\circ}\text{C}$$

A.1.1.3 计算密度瓶中空气质量：

$$m = 0.001 \text{ 2} \times (p - p')$$

$$m = 0.001 \text{ 2} \times (104.945 \text{ 4} - 1.239 \text{ 6})$$

$$m = 0.124 \text{ 4}$$

A.1.1.4 记录：

空密度瓶皮重质量： $p + m$

$$p + m = 104.945 \text{ 4} + 0.1244$$

$$p + m = 105.069 \text{ 8 g}$$

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = (p + m - p') \times Ft^{\circ}\text{C}$$

$$F_{20.50^{\circ}\text{C}} = 1.001 \text{ 900}$$

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = (105.069 \text{ 8} - 1.239 \text{ 6}) \times 1.001 \text{ 900}$$

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = 104.027 \text{ 5 mL}$$

$$20^{\circ}\text{C} \text{ 时水的质量} = V_{20^{\circ}\text{C}} \times 0.998 \text{ 203}$$

$$M_{20^{\circ}\text{C}} = 103.840 \text{ 5 g}$$

A.1.2 测定干型葡萄酒 20°C 时的密度和 $20^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$ 相对密度

$$p'' = 1.262 \text{ 2}, \text{ 在 } 17.80^{\circ}\text{C} \text{ 时}$$

$$\rho_{17.80^{\circ}\text{C}} = \frac{105.069 \text{ 8} - 1.262 \text{ 2}}{104.027 \text{ 5}}$$

$$\rho_{17.80^{\circ}\text{C}} = 0.997 \text{ 88}$$

可通过表 B.2 和下列公式由 $\rho_{t^{\circ}\text{C}}$ 计算 $\rho_{20^{\circ}\text{C}}$ ：

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{c}{1 \text{ 000}}$$

在 $t = 17.80^{\circ}\text{C}$ ，酒精度为 11% vol 时， $c = 0.54$ ：

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = 0.997 \text{ 88} \pm \frac{0.54}{1 \text{ 000}}$$

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = 0.99734 \text{ g/mL}$$

$$d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}} = \frac{0.997 \text{ 34}}{0.998 \text{ 203}} + 0.999 \text{ 13}$$

A.2 单盘天平密度瓶法

A.2.1 密度瓶法标准化操作

A.2.1.1 干燥且洁净密度瓶的质量:

$$P = 67.7913 \text{ g}$$

A.2.1.2 $t^{\circ}\text{C}$ 时密度瓶装满水后的质量:

$$P_1 = 169.2715 \text{ g 在 } 21.65^{\circ}\text{C 时}$$

A.2.1.3 计算密度瓶中空气质量:

$$m = 0.0012(P_1 - P)$$

$$m = 0.0012 \times 101.4802$$

$$m = 0.1218 \text{ g}$$

A.2.1.4 记录:

空密度瓶皮重质量: $P - m$

$$P - m = 67.7913 - 0.1218$$

$$P - m = 67.6695 \text{ g}$$

20℃时体积 $V_{20^{\circ}\text{C}} = [P_1 - (P - m)] \times F_{t^{\circ}\text{C}}$

$$F_{21.65^{\circ}\text{C}} = 1.002140$$

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = (169.2715 - 67.6695) \times 1.002140$$

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = 101.8194 \text{ mL}$$

20℃时水的质量 $M_{20^{\circ}\text{C}} = V_{20^{\circ}\text{C}} \times 0.998203$

$$M_{20^{\circ}\text{C}} = 101.6364 \text{ g}$$

皮重瓶质量: T_0

$$T_0 = 171.9160 \text{ g}$$

A.2.2 测定干型葡萄酒 20℃时的密度和 20℃/20℃的相对密度

$$T_1 = 171.9178$$

$$dT = 171.9178 - 171.9160 = +0.0018 \text{ g}$$

$$P - m + dT = 67.6695 + 0.0018 = 67.6713 \text{ g}$$

$$P_2 = 169.2799 \text{ 在 } 18^{\circ}\text{C 时}$$

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \frac{169.2799 - 67.6713}{101.8194}$$

$$\rho_{18^{\circ}\text{C}} = 0.99793 \text{ g/mL}$$

可通过表 B.2 和下列公式由 $\rho_{t^{\circ}\text{C}}$ 计算 $\rho_{20^{\circ}\text{C}}$:

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{c}{1000}$$

当 $t = 18^{\circ}\text{C}$, 酒精度为 11% vol 时 $c = 0.49$:

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = 0.99793 - \frac{0.49}{1000}$$

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = 0.99744 \text{ g/mL}$$

$$d_{20^{\circ}\text{C}}^{20^{\circ}\text{C}} = \frac{0.99744}{0.998203} = 0.99923$$



附录 B

表 B.1 F 因子 $t^{\circ}\text{C}$ 派热克斯密度瓶中水的质量乘以因子 F 计算 20°C 密度瓶的体积。

$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F	$t^{\circ}\text{C}$	F
10.0	1.000 398	11.3	1.000 511	12.6	1.000 645	13.9	1.000 803	15.2	1.000 979	16.5	1.001 175	17.8	1.001 391		
10.1	1.000 406	11.4	1.000 520	12.7	1.000 656	14.0	1.000 816	15.3	1.000 993	16.6	1.001 191	17.9	1.001 409		
10.2	1.000 414	11.5	1.000 530	12.8	1.000 668	14.1	1.000 829	15.4	1.001 008	16.7	1.001 207	18.0	1.001 427		
10.3	1.000 422	11.6	1.000 540	12.9	1.000 679	14.2	1.000 842	15.5	1.001 022	16.8	1.001 223	18.1	1.001 445		
10.4	1.000 430	11.7	1.000 550	13.0	1.000 691	14.3	1.000 855	15.6	1.001 037	16.9	1.001 239	18.2	1.001 462		
10.5	1.000 439	11.8	1.000 560	13.1	1.000 703	14.4	1.000 868	15.7	1.001 052	17.0	1.001 257	18.3	1.001 480		
10.6	1.000 447	11.9	1.000 570	13.2	1.000 714	14.5	1.000 882	15.8	1.001 067	17.1	1.001 273	18.4	1.001 498		
10.7	1.000 456	12.0	1.000 580	13.3	1.000 726	14.6	1.000 895	15.9	1.001 082	17.2	1.001 286	18.5	1.001 516		
10.8	1.000 465	12.1	1.000 591	13.4	1.000 738	14.7	1.000 909	16.0	1.001 097	17.3	1.001 306	18.6	1.001 534		
10.9	1.000 474	12.2	1.000 601	13.5	1.000 752	14.8	1.000 923	16.1	1.001 113	17.4	1.001 323	18.7	1.001 552		
11.0	1.000 483	12.3	1.000 612	13.6	1.000 764	14.9	1.000 937	16.2	1.001 128	17.5	1.001 340	18.8	1.001 570		
11.1	1.000 492	12.4	1.000 623	13.7	1.000 777	15.0	1.000 951	16.3	1.001 144	17.6	1.001 357	18.9	1.001 589		
11.2	1.000 501	12.5	1.000 634	13.8	1.000 789	15.1	1.000 965	16.4	1.001 159	17.7	1.001 374	19.0	1.001 608		



表 B.1(续)

19.1	1.001 627	20.8	1.001 961	22.5	1.002 326	24.2	1.002 720	25.9	1.003 143	27.6	1.003 594	29.3	1.004 071
19.2	1.001 646	20.9	1.001 982	22.6	1.002 349	24.3	1.002 745	26.0	1.003 168	27.7	1.003 621	29.4	1.004 099
19.3	1.001 665	21.0	1.002 002	22.7	1.002 372	24.4	1.002 769	26.1	1.003 194	27.8	1.003 649	29.5	1.004 128
19.4	1.001 684	21.1	1.002 023	22.8	1.002 394	24.5	1.002 793	26.2	1.003 222	27.9	1.003 676	29.6	1.004 158
19.5	1.001 703	21.2	1.002 044	22.9	1.002 417	24.6	1.002 817	26.3	1.003 247	28.0	1.003 704	29.7	1.004 187
19.6	1.001 722	21.3	1.002 065	23.0	1.002 439	24.7	1.002 842	26.4	1.003 273	28.1	1.003 731	29.8	1.004 216
19.7	1.001 741	21.4	1.002 086	23.1	1.002 462	24.8	1.002 866	26.5	1.003 299	28.2	1.003 759	29.9	1.004 245
19.8	1.001 761	21.5	1.002 107	23.2	1.002 485	24.9	1.002 891	26.6	1.003 326	28.3	1.003 797	30.0	1.004 275
19.9	1.001 780	21.6	1.002 129	23.3	1.002 508	25.0	1.002 916	26.7	1.003 352	28.4	1.003 815		
20.0	1.001 800	21.7	1.002 151	23.4	1.002 531	25.1	1.002 941	26.8	1.003 379	28.5	1.003 843		
20.1	1.001 819	21.8	1.002 172	23.5	1.002 555	25.2	1.002 966	26.9	1.003 405	28.6	1.003 871		
20.2	1.001 839	21.9	1.002 194	23.6	1.002 578	25.3	1.002 990	27.0	1.003 432	28.7	1.003 899		
20.3	1.001 959	22.0	1.002 215	23.7	1.002 602	25.4	1.003 015	27.1	1.003 459	28.8	1.003 928		
20.4	1.001 880	22.1	1.002 238	23.8	1.002 625	25.5	1.003 041	27.2	1.003 485	28.9	1.003 956		
20.5	1.001 900	22.2	1.002 260	23.9	1.002 649	25.6	1.003 066	27.3	1.003 513	29.0	1.003 984		
20.6	1.001 920	22.3	1.002 282	24.0	1.002 672	25.7	1.003 092	27.4	1.003 540	29.1	1.004 013		
20.7	1.001 941	22.4	1.002 304	24.1	1.002 696	25.8	1.003 117	27.5	1.003 567	29.2	1.004 042		



表 B.2 温度校正常数 C

温度校正常数 C, 用于将 $t^{\circ}\text{C}$ 时派热克斯玻璃密度瓶测定无酒精干型葡萄酒和干型葡萄酒的密度校正至 20°C 。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1\,000} \quad - : t < 20^{\circ}\text{C} \quad + : t > 20^{\circ}\text{C} \quad C \text{ 为温度校正常数。}$$

酒精度/(°)	0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	1.59	1.64	1.67	1.71	1.77	1.84	1.91	2.01	2.11	2.22	2.34	2.46	2.60	2.73	2.88	3.03	3.19	3.35	3.52	3.70	3.87	4.06	4.25	4.44
11	1.48	1.53	1.56	1.60	1.64	1.70	1.77	1.86	1.95	2.05	2.16	2.27	2.38	2.51	2.63	2.77	2.91	3.06	3.21	3.36	3.53	3.69	3.86	4.03
12	1.36	1.40	1.43	1.46	1.50	1.56	1.62	1.69	1.78	1.86	1.96	2.05	2.16	2.27	2.38	2.50	2.62	2.75	2.88	3.02	3.16	3.31	3.46	3.61
13	1.22	1.26	1.28	1.32	1.35	1.40	1.45	1.52	1.59	1.67	1.75	1.83	1.92	2.01	2.11	2.22	2.32	2.44	2.55	2.67	2.79	2.92	3.05	3.18
14	1.08	1.11	1.13	1.16	1.19	1.23	1.27	1.33	1.39	1.46	1.52	1.60	1.67	1.75	1.94	1.93	2.03	2.11	2.21	2.31	2.42	2.52	2.63	2.74
15	0.92	0.96	0.97	0.99	1.02	1.05	1.09	1.13	1.19	1.24	1.30	1.36	1.42	1.48	1.55	1.63	1.70	1.78	1.86	1.95	2.03	2.12	2.21	2.30
16	0.76	0.79	0.80	0.81	0.94	0.86	0.89	0.93	0.97	1.01	1.06	1.10	1.16	1.21	1.26	1.32	1.38	1.44	1.51	1.57	1.64	1.71	1.78	1.85
17	0.59	0.61	0.62	0.63	0.65	0.67	0.69	0.72	0.75	0.78	0.81	0.85	0.88	0.95	0.96	1.01	1.05	1.11	1.15	1.20	1.25	1.30	1.35	1.40
18	0.40	0.42	0.42	0.43	0.44	0.46	0.47	0.49	0.51	0.53	0.55	0.57	0.60	0.63	0.65	0.68	0.71	0.74	0.77	0.81	0.84	0.87	0.91	0.94
19	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.32	0.33	0.34	0.36	0.37	0.39	0.41	0.42	0.44	0.46	0.47
20																								
21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.31	0.32	0.34	0.36	0.37	0.38	0.40	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48
22	0.44	0.45	0.46	0.47	0.48	0.49	0.51	0.52	0.54	0.56	0.59	0.61	0.63	0.66	0.69	0.71	0.74	0.77	0.80	0.83	0.87	0.90	0.93	0.97
23	0.68	0.70	0.71	0.72	0.74	0.76	0.78	0.80	0.83	0.86	0.90	0.93	0.96	1.00	1.03	1.08	1.13	1.17	1.22	1.26	1.31	1.37	1.41	1.46
24	0.93	0.96	0.97	0.99	1.01	1.03	1.06	1.10	1.13	1.18	1.22	1.26	1.31	1.36	1.41	1.47	1.52	1.58	1.64	1.71	1.77	1.84	1.90	1.97
25	1.19	1.23	1.25	1.27	1.29	1.32	1.36	1.40	1.45	1.50	1.55	1.61	1.67	1.73	1.80	1.86	1.93	2.00	2.08	2.16	2.24	2.32	2.40	2.48
26	1.47	1.51	1.53	1.56	1.59	1.62	1.67	1.72	1.77	1.83	1.90	1.96	2.03	2.11	2.19	2.27	2.35	2.44	2.53	2.62	2.72	2.81	2.91	3.01
27	1.75	1.80	1.82	1.85	1.89	1.93	1.98	2.04	2.11	2.18	2.25	2.33	2.41	2.50	2.59	2.68	2.78	2.88	2.98	3.09	3.20	3.31	3.42	3.53
28	2.04	2.10	2.13	2.16	2.20	2.25	2.31	2.38	2.45	2.53	2.62	2.70	2.80	2.89	3.00	3.10	3.21	3.32	3.45	3.57	3.69	3.82	3.94	4.07
29	2.34	2.41	2.44	2.48	2.53	2.58	2.65	2.72	2.81	2.89	2.99	3.09	3.19	3.30	3.42	3.53	3.65	3.78	3.92	4.05	4.19	4.33	4.47	4.61
30	2.66	2.73	2.77	2.81	2.86	2.92	3.00	3.08	3.17	3.27	3.37	3.48	3.59	3.72	3.84	3.97	4.11	4.25	4.40	4.55	4.70	4.85	4.92	5.17

注:本表可用于转换 $d_{20^{\circ}\text{C}}$ 的校正。

表 B.3

温度校正常数 C, 用于将 t℃ 时派热克斯玻璃密度瓶测定的天然葡萄汁和浓缩葡萄汁的密度校正至 20℃。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1000} \quad - : t < 20^{\circ}\text{C} \quad + : t > 20^{\circ}\text{C}$$

密度/(g/mL)	1.05	1.06	1.07	1.08	1.09	1.10	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.18	1.20	1.22	1.24	1.26	1.28	1.30	1.32	1.34	1.36
10	2.31	2.48	2.66	2.82	2.99	3.13	3.30	3.44	3.59	3.73	3.88	4.01	4.28	4.52	4.76	4.98	5.18	5.42	5.56	5.73	5.90	6.05
11	2.12	2.28	2.42	2.57	2.72	2.86	2.99	3.12	3.25	3.37	3.50	3.62	3.85	4.08	4.29	4.148	4.67	4.84	5.00	5.16	5.31	5.45
12	1.92	2.06	2.19	2.32	2.45	2.58	2.70	2.92	2.94	3.04	3.15	3.26	3.47	3.67	3.85	4.03	4.20	4.36	4.51	4.65	4.78	4.91
13	1.72	1.84	1.95	2.06	2.17	2.27	2.38	2.48	2.58	2.69	2.78	2.89	3.05	3.22	3.39	3.55	3.65	3.84	3.98	4.11	4.24	4.36
14	1.52	1.62	1.72	1.81	1.90	2.00	2.09	2.17	2.26	2.34	2.43	2.51	2.66	2.82	2.96	3.09	3.22	3.34	3.45	3.56	3.67	3.76
15	1.28	1.36	1.44	1.52	1.60	1.67	1.75	1.82	1.89	1.96	2.04	2.11	2.24	2.36	2.48	2.59	2.69	2.79	2.88	2.97	3.03	3.10
16	1.050	1.12	1.18	1.25	1.31	1.37	1.43	1.49	1.55	1.60	1.66	1.71	1.81	1.90	2.00	2.08	2.16	2.24	2.30	2.37	2.43	2.49
17	0.80	0.86	0.90	0.95	1.00	1.04	1.09	1.13	1.18	1.22	1.26	1.30	1.37	1.44	1.51	1.57	1.62	1.68	1.72	1.76	1.8	1.84
18	0.56	0.59	0.62	0.66	0.68	0.72	0.75	0.77	0.80	0.83	0.85	0.88	0.93	0.98	1.02	1.05	1.09	1.12	1.16	1.19	1.21	1.24
19	0.29	0.31	0.32	0.34	0.36	0.37	0.39	0.40	0.42	0.43	0.44	0.45	0.48	0.50	0.52	0.54	0.56	0.57	0.59	0.60	0.61	0.62
20																						
温度 / °C																						
21	0.29	0.30	0.32	0.34	0.35	0.37	0.38	0.40	0.41	0.42	0.44	0.46	0.48	0.50	0.53	0.56	0.58	0.59	0.6	0.61	0.62	0.62
22	0.58	0.61	0.64	0.67	0.70	0.73	0.76	0.79	0.81	0.84	0.87	0.90	0.96	1.03	1.05	1.09	1.12	1.15	1.18	1.20	1.22	1.23
23	0.89	0.94	0.99	1.03	1.08	1.12	1.16	1.20	1.25	1.29	1.33	1.37	1.44	1.51	1.57	1.63	1.67	1.73	1.77	1.80	1.82	1.94
24	1.20	1.25	1.31	1.37	1.43	1.49	1.54	1.60	1.66	1.71	1.77	1.82	1.92	2.01	2.10	2.17	2.24	2.30	2.36	2.40	2.42	2.44
25	1.51	1.59	1.66	1.74	1.81	1.88	1.95	2.02	2.09	2.16	2.23	2.30	2.42	2.53	2.63	2.72	2.82	2.89	2.95	2.99	3.01	3.05
26	1.84	1.92	2.01	2.1	2.18	2.26	2.34	2.42	2.50	2.58	2.65	2.73	2.87	3.00	3.13	3.25	3.36	3.47	3.57	3.65	3.72	3.79
27	2.17	2.26	2.36	2.46	2.56	2.66	2.75	2.84	2.93	3.01	3.10	3.18	3.35	3.50	3.66	3.8	3.93	4.06	4.16	4.26	4.35	4.42
28	2.50	2.62	2.74	2.85	2.96	3.07	3.18	3.28	3.40	3.50	3.60	3.69	3.87	4.04	4.21	4.36	4.50	4.64	4.75	4.86	4.94	5.00
29	2.86	2.98	3.10	3.22	3.35	3.47	3.59	3.70	3.82	3.93	4.03	4.14	4.34	4.53	4.72	4.89	5.05	5.20	5.34	5.46	5.56	5.64
30	3.20	3.35	3.49	3.64	3.77	3.91	4.05	4.17	4.30	4.43	4.55	4.67	4.90	5.12	5.39	5.51	5.68	5.94	5.96	6.09	6.16	6.22

注: 本表可用于将 $d_{20}^{t^{\circ}\text{C}}$ 转换为 $d_{20}^{20^{\circ}\text{C}}$ 。



表 B.4

温度校正常数 C 用于将 $t^{\circ}\text{C}$ 时派热克斯玻璃密度瓶测定的甜型葡萄酒的密度校正至 20°C 。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1\,000} \quad - : t < 20^{\circ}\text{C} \quad + : t > 20^{\circ}\text{C}$$

密度/ (g/mL)	13% vol 葡萄酒						15% vol 葡萄酒						17% vol 葡萄酒								
	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120
10	2.36	2.71	3.06	3.42	3.72	3.96	4.32	2.64	2.99	3.36	3.68	3.99	4.3	4.59	2.94	3.29	3.64	3.98	4.29	4.6	4.89
11	2.17	2.49	2.8	2.99	3.39	3.65	3.9	2.42	2.73	3.05	3.34	3.63	3.89	4.15	2.69	3	3.32	3.61	3.9	4.16	4.41
12	1.97	2.25	2.53	2.79	3.05	3.29	3.52	2.19	2.47	2.75	3.01	3.27	3.51	3.73	2.42	2.7	2.98	3.24	3.5	3.74	3.96
13	1.78	2.02	2.25	2.47	2.69	2.89	3.09	1.97	2.21	2.44	2.66	2.87	3.08	3.29	2.18	2.42	2.64	2.87	3.08	3.29	3.49
14	1.57	1.78	1.98	2.16	2.35	2.53	2.7	1.74	1.94	2.14	2.32	2.52	2.69	2.86	1.91	2.11	2.31	2.5	2.69	2.86	3.03
15	1.32	1.49	1.66	1.82	1.97	2.12	2.26	1.46	1.63	1.79	1.95	2.1	2.25	2.39	1.6	1.77	1.93	2.09	2.24	2.39	2.53
16	1.08	1.22	1.36	1.48	1.61	1.73	1.84	1.18	1.32	1.46	1.59	1.71	1.83	1.94	1.3	1.44	1.58	1.71	1.83	1.95	2.06
17	0.83	0.94	1.04	1.13	1.22	1.31	1.4	0.91	1.02	1.12	1.21	1.3	1.39	1.48	1	1.1	1.2	1.3	1.39	1.48	1.56
18	0.58	0.64	0.71	0.78	0.84	0.89	0.95	0.63	0.69	0.76	0.83	0.89	0.94	1	0.69	0.75	0.82	0.89	0.95	1	1.06
19	0.3	0.34	0.37	0.4	0.43	0.46	0.49	0.33	0.37	0.4	0.43	0.46	0.49	0.52	0.36	0.39	0.42	0.46	0.49	0.52	0.54
20																					
21	0.3	0.33	0.36	0.4	0.43	0.46	0.49	0.33	0.36	0.39	0.43	0.46	0.49	0.51	0.35	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51	0.54
22	0.6	0.67	0.73	0.8	0.85	0.91	0.98	0.65	0.72	0.78	0.84	0.9	0.96	1.01	0.71	0.78	0.84	0.9	0.96	1.01	1.07
23	0.93	1.02	1.12	1.22	1.3	1.39	1.49	1.01	1.1	1.2	1.29	1.38	1.46	1.55	1.1	1.19	1.29	1.38	1.46	1.55	1.63
24	1.27	1.39	1.5	1.61	1.74	1.84	1.95	1.37	1.49	1.59	1.72	1.84	1.95	2.06	1.48	1.6	1.71	1.83	1.95	2.06	2.17
25	1.61	1.75	1.9	2.05	2.19	2.33	2.47	1.73	1.87	2.02	2.17	2.31	2.45	2.59	1.87	2.01	2.16	2.31	2.45	2.59	2.73
26	1.94	2.12	2.29	2.47	2.63	2.79	2.95	2.09	2.27	2.44	2.62	2.78	2.94	3.1	2.26	2.44	2.61	2.79	2.95	3.11	3.26
27	2.3	2.51	2.7	2.9	3.09	3.27	3.44	2.48	2.68	2.87	3.07	3.27	3.45	3.62	2.67	2.88	3.07	3.27	3.46	3.64	3.81
28	2.66	2.9	3.13	3.35	3.57	3.86	4	2.86	3.1	3.23	3.55	3.77	3.99	4.2	3.08	3.31	3.55	3.76	3.99	4.21	4.41
29	3.05	3.31	3.56	3.79	4.04	4.27	4.49	3.28	3.53	3.77	4.02	4.26	4.49	4.71	3.52	3.77	4.01	4.26	4.5	4.73	4.95
30	3.44	3.7	3.99	4.28	4.54	4.8	5.06	3.68	3.94	4.23	4.52	4.79	5.05	5.3	3.95	4.22	4.51	4.79	5.07	5.32	5.57

温度 / $^{\circ}\text{C}$



表 B.4(续)

密度/ (g/mL)	19%vol 葡萄酒								21%vol 葡萄酒							
	1.000	1.020	1.040	1.060	1.000	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120		
10	3.27	3.62	3.97	4.30	4.62	4.92	5.21	3.62	3.97	4.32	4.66	4.97	5.27	5.56		
11	2.99	3.30	3.61	3.90	4.19	4.45	4.70	3.28	3.61	3.92	4.22	4.50	4.76	5.01		
12	2.68	2.96	3.24	3.50	3.76	4.00	4.21	2.96	3.24	3.52	3.78	4.03	4.27	4.49		
13	2.68	2.96	3.24	3.50	3.76	4.00	4.21	2.96	3.24	3.52	3.78	4.03	4.27	4.49		
14	2.11	2.31	2.51	2.69	2.88	3.05	3.22	2.31	2.51	2.71	2.89	3.08	3.25	3.43		
15	1.76	1.93	2.09	2.25	2.40	2.55	2.69	1.93	2.10	2.26	2.42	2.57	2.72	2.86		
16	1.43	1.57	1.70	1.83	1.95	2.08	2.18	1.56	1.70	1.84	1.97	2.09	2.21	2.32		
17	1.09	1.20	1.30	1.39	1.48	1.57	1.65	1.20	1.31	1.41	1.50	1.59	1.68	1.77		
18	0.76	0.82	0.88	0.95	1.01	1.06	1.12	0.82	0.88	0.95	1.01	1.08	1.13	1.18		
19	0.39	0.42	0.45	0.49	0.52	0.55	0.57	0.42	0.46	0.49	0.52	0.55	0.58	0.61		
20																
21	0.38	0.42	0.45	0.48	0.51	0.54	0.57	0.41	0.45	0.48	0.51	0.54	0.57	0.60		
22	0.78	0.84	0.90	0.96	1.02	1.07	1.13	0.84	0.90	0.96	1.02	1.08	1.14	1.19		
23	1.19	1.28	1.38	1.47	1.55	1.64	1.72	1.29	1.39	1.48	1.57	1.65	1.74	1.82		
24	1.60	1.72	1.83	1.95	2.06	2.18	2.29	1.73	1.85	1.96	2.08	2.19	2.31	2.42		
25	2.02	2.16	2.31	2.46	2.60	2.74	2.88	2.18	2.32	2.47	2.62	2.76	2.90	3.04		
26	2.44	2.62	2.79	2.96	3.12	3.28	3.43	2.53	2.81	2.97	3.15	3.31	3.47	3.62		
27	2.88	3.08	3.27	3.42	3.66	3.84	4.01	3.10	3.30	3.47	3.69	3.88	4.06	4.23		
28	3.31	3.54	3.78	4.00	4.22	4.44	4.64	3.56	3.79	4.03	4.25	4.47	4.69	4.89		
29	3.78	4.03	4.27	4.52	4.76	4.99	5.21	4.06	4.31	4.55	4.80	5.04	5.27	5.48		
30	4.24	4.51	4.80	5.08	5.36	5.61	5.86	4.54	4.82	5.11	5.39	5.66	5.91	6.16		

温度 / °C



表 B.5

温度校正常数 C 用于将 $t^{\circ}\text{C}$ 时普通玻璃密度瓶或密度计测定的干型葡萄酒和无酒精干型葡萄酒的密度校正至 20°C 。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1\,000} \quad \begin{array}{l} - : t < 20^{\circ}\text{C} \\ + : t > 20^{\circ}\text{C} \end{array}$$

酒精度	0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	1.45	1.51	1.55	1.58	1.64	1.76	1.78	1.89	1.98	2.09	2.21	2.34	2.47	2.60	2.15	2.93	3.06	3.22	3.39	3.57	3.75	3.93	4.12	4.31
11	1.35	1.40	1.43	1.47	1.52	1.58	1.65	1.73	1.83	1.93	2.03	2.15	2.26	2.38	2.51	2.65	2.78	2.93	3.08	3.24	3.40	3.57	3.73	3.90
12	1.24	1.28	1.31	1.34	1.39	1.44	1.50	1.58	1.66	1.75	1.84	1.94	2.04	2.15	2.26	2.38	2.51	2.63	2.77	2.91	3.05	3.19	3.34	3.49
13	1.12	1.16	1.18	1.21	1.25	1.30	1.35	1.42	1.49	1.56	1.64	1.73	1.82	1.91	2.01	2.11	2.22	2.33	2.45	2.57	2.69	2.81	2.95	3.07
14	0.99	1.03	1.05	1.07	1.11	1.14	1.19	1.24	1.31	1.37	1.44	1.52	1.59	1.67	1.75	1.84	1.93	2.03	2.13	2.23	2.33	2.44	2.55	2.66
15	0.86	0.89	0.90	0.92	0.95	0.98	1.02	1.07	1.12	1.17	1.23	1.29	1.35	1.42	1.49	1.56	1.63	1.71	1.80	1.88	1.96	2.05	2.14	2.23
16	0.71	0.73	0.74	0.76	0.78	0.81	0.84	0.87	0.91	0.95	0.99	1.05	1.10	1.15	1.21	1.27	1.33	1.39	1.45	1.52	1.59	1.66	1.73	1.80
17	0.55	0.57	0.57	0.59	0.60	0.62	0.65	0.67	0.70	0.74	0.77	0.81	0.84	0.88	0.92	0.96	1.01	1.05	1.10	1.15	1.20	1.26	1.31	1.36
18	0.38	0.39	0.39	0.40	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48	0.50	0.52	0.55	0.57	0.60	0.62	0.65	0.68	0.71	0.74	0.78	0.81	0.85	0.88	0.91
19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.23	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.32	0.33	0.34	0.36	0.38	0.39	0.41	0.43	0.44	0.46
20																								
21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24	0.25	0.25	0.26	0.27	0.28	0.29	0.31	0.32	0.34	0.35	0.36	0.38	0.39	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48
22	0.43	0.45	0.45	0.46	0.47	0.49	0.50	0.52	0.54	0.56	0.58	0.60	0.62	0.65	0.68	0.71	0.73	0.77	0.80	0.83	0.86	0.89	0.93	0.96
23	0.67	0.69	0.70	0.71	0.72	0.74	0.77	0.79	0.82	0.85	0.88	0.91	0.95	0.99	1.03	1.07	1.12	1.16	1.21	1.25	1.30	1.35	1.40	1.45
24	0.91	0.93	0.95	0.97	0.99	1.01	1.04	1.07	1.11	1.15	1.20	1.24	1.29	1.34	1.39	1.45	1.50	1.56	1.62	1.69	1.76	1.82	1.88	1.95
25	1.16	1.19	1.21	1.23	1.26	1.29	1.33	1.37	1.42	1.47	1.52	1.57	1.63	1.70	1.76	1.83	1.90	1.97	2.05	2.13	2.21	2.29	2.37	2.45
26	1.42	1.46	1.49	1.51	1.54	1.58	1.62	1.67	1.73	1.79	1.85	1.92	1.99	2.07	2.14	2.22	2.31	2.40	2.49	2.58	2.67	2.77	2.86	2.96
27	1.69	1.74	1.77	1.80	1.83	1.88	1.93	1.98	2.05	2.12	2.20	2.27	2.35	2.44	2.53	2.63	2.72	2.82	2.93	3.04	3.14	3.25	3.37	3.48
28	1.97	2.03	2.06	2.09	2.14	2.19	2.24	2.31	2.38	2.46	2.55	2.63	2.73	2.83	2.93	3.03	3.14	3.26	3.38	3.50	3.62	3.75	3.85	4.00
29	2.26	2.33	2.37	2.41	2.45	2.50	2.57	2.64	2.73	2.82	2.91	2.99	3.11	3.22	3.34	3.46	3.58	3.70	3.84	3.97	4.11	4.25	4.39	4.54
30	2.56	2.64	2.67	2.72	2.77	2.83	2.90	2.98	3.08	3.18	3.28	3.38	3.50	3.62	3.75	3.88	4.02	4.16	4.30	4.46	4.61	4.76	4.92	5.07

温度 / $^{\circ}\text{C}$

注:本表可用于将 $d_{20^{\circ}\text{C}}^{\text{酒}}$ 转换为 $d_{20^{\circ}\text{C}}^{\text{水}}$ 。

表 B.6

温度校正常数 C 用于将 t℃ 时普通玻璃密度瓶或密度计测定的天然葡萄酒和浓缩葡萄酒的密度校正至 20℃。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1000} \begin{matrix} - : t < 20^{\circ}\text{C} \\ + : t > 20^{\circ}\text{C} \end{matrix}$$

密度/(g/mL)	1.05	1.06	1.07	1.08	1.09	1.10	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.18	1.20	1.22	1.24	1.26	1.28	1.30	1.32	1.34	1.36
11	2.00	2.16	2.29	2.44	2.59	2.73	2.86	2.99	3.12	3.24	3.37	3.48	3.71	3.94	4.15	4.33	4.52	4.69	4.85	5.01	5.15	5.29
12	1.81	1.95	2.08	2.21	2.34	2.47	2.58	2.70	2.82	2.92	3.03	3.14	3.35	3.55	3.72	3.90	4.07	4.23	4.37	4.52	4.64	4.77
13	1.62	1.74	1.85	1.96	2.07	2.17	2.28	2.38	2.48	2.59	2.68	2.77	2.94	3.11	3.28	3.44	3.54	3.72	3.86	3.99	4.12	4.24
14	1.44	1.54	1.64	1.73	1.82	1.92	2.00	2.08	2.17	2.25	2.34	2.42	2.57	2.73	2.86	2.99	3.12	3.24	3.35	3.46	3.57	3.65
15	1.21	1.29	1.37	1.45	1.53	1.60	1.68	1.75	1.82	1.89	1.97	2.03	2.16	2.28	2.40	2.51	2.61	2.71	2.80	2.89	2.94	3.01
16	1.00	1.06	1.12	1.19	1.25	1.31	1.37	1.43	1.49	1.54	1.60	1.65	1.75	1.84	1.94	2.02	2.09	2.17	2.23	2.30	2.36	2.42
17	0.76	0.82	0.86	0.91	0.96	1.00	1.05	1.09	1.14	1.18	1.22	1.25	1.32	1.39	1.46	1.52	1.57	1.63	1.67	1.71	1.75	1.79
18	0.53	0.56	0.59	0.63	0.65	0.69	0.72	0.74	0.77	0.80	0.82	0.85	0.90	0.95	0.99	1.02	1.05	1.09	1.13	1.16	1.18	1.20
19	0.28	0.30	0.31	0.33	0.35	0.36	0.38	0.39	0.41	0.42	0.43	0.43	0.46	0.48	0.50	0.52	0.54	0.55	0.57	0.58	0.59	0.60
20																						
21	0.28	0.29	0.31	0.33	0.34	0.36	0.37	0.39	0.40	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48	0.51	0.54	0.56	0.57	0.58	0.59	0.60	0.60
22	0.55	0.58	0.61	0.64	0.67	0.70	0.73	0.76	0.78	0.81	0.84	0.87	0.93	0.97	1.02	1.06	1.09	1.12	1.15	1.17	1.19	1.19
23	0.85	0.90	0.95	0.99	1.04	1.08	1.12	1.16	1.21	1.25	1.29	1.32	1.39	1.46	1.52	1.58	1.62	1.68	1.72	1.75	1.77	1.79
24	1.15	1.19	1.25	1.31	1.37	1.43	1.48	1.54	1.60	1.65	1.71	1.76	1.86	1.95	2.04	2.11	2.17	2.23	2.29	2.33	2.35	2.37
25	1.44	1.52	1.59	1.67	1.74	1.81	1.88	1.95	2.02	2.09	2.16	2.22	2.34	2.45	2.55	2.64	2.74	2.81	2.87	2.90	2.92	2.96
26	1.76	1.84	1.93	2.02	2.10	2.18	2.25	2.33	2.41	2.49	2.56	2.64	2.78	2.91	3.03	3.15	3.26	3.37	3.47	3.55	3.62	3.60
27	2.07	2.16	2.26	2.36	2.46	2.56	2.65	2.74	2.83	2.91	3.00	3.07	3.24	3.39	3.55	3.69	3.82	3.94	4.04	4.14	4.23	4.30
28	2.39	2.51	2.63	2.74	2.85	2.96	3.06	3.16	3.28	3.38	3.48	3.57	3.75	3.92	4.08	4.23	4.37	4.51	4.62	4.73	4.80	4.86
29	2.74	2.86	2.97	3.09	3.22	3.34	3.46	3.57	3.69	3.90	3.90	4.00	4.20	4.39	4.58	4.74	4.90	5.05	5.19	5.31	5.40	5.48
30	3.06	3.21	3.35	3.50	3.63	3.77	3.91	4.02	4.15	4.28	4.40	4.52	4.75	4.96	5.16	5.35	5.52	5.67	5.79	5.91	5.99	6.04

温度 / °C

注:本表可用于将 $d_{20^{\circ}\text{C}}^{\text{N}}$ 转换为 $d_{20^{\circ}\text{C}}^{\text{N}}$ 。



表 B.7

温度校正常数 C 用于将 $t^{\circ}\text{C}$ 时普通玻璃密度瓶或密度计测定的甜型葡萄酒的密度校正至 20°C 。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1\,000} \quad - : t < 20^{\circ}\text{C} \quad + : t > 20^{\circ}\text{C}$$

密度/ (g/mL)	13% vol 葡萄酒					15% vol 葡萄酒					17% vol 葡萄酒										
	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120
10	2.24	2.58	2.93	3.27	3.59	3.89	4.18	2.51	2.85	3.20	3.54	3.85	4.02	4.46	2.81	3.15	3.50	3.84	4.15	4.45	4.74
11	2.06	2.37	2.69	2.97	3.26	3.53	3.78	2.31	2.61	2.93	3.21	3.51	3.64	4.02	2.57	2.89	3.20	3.49	3.77	4.03	4.28
12	1.87	2.14	2.42	2.67	2.94	3.17	3.40	2.09	2.36	2.64	2.90	3.16	3.27	3.61	2.32	2.60	2.87	3.13	3.39	3.63	3.84
13	1.69	1.93	2.14	2.37	2.59	2.80	3.00	1.88	2.12	2.34	2.56	2.78	2.88	3.19	2.09	2.33	2.55	2.77	2.98	3.19	3.39
14	1.49	1.70	1.90	2.09	2.27	2.44	2.61	1.67	1.86	2.06	2.25	2.45	2.51	2.77	1.83	2.03	2.23	2.42	2.61	2.77	2.94
15	1.25	1.42	1.59	1.75	1.90	2.05	2.19	1.39	1.56	1.72	1.88	2.03	2.11	2.32	1.54	1.71	1.87	2.03	2.18	2.32	2.47
16	1.03	1.17	1.30	1.43	1.55	1.67	1.78	1.06	1.27	1.40	1.53	1.65	1.77	1.88	1.25	1.39	1.52	1.65	1.77	1.89	2.00
17	0.80	0.90	1.00	1.09	1.17	1.27	1.36	0.87	0.98	1.08	1.17	1.26	1.35	1.44	0.96	1.06	1.16	1.26	1.35	1.44	1.52
18	0.54	0.61	0.68	0.75	0.81	0.86	0.92	0.60	0.66	0.73	0.80	0.85	0.91	0.97	0.66	0.72	0.79	0.86	0.92	0.97	1.03
19	0.29	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.32	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51	0.35	0.38	0.41	0.45	0.48	0.51	0.53
20																					
21	0.29	0.32	0.35	0.39	0.42	0.45	0.47	0.32	0.35	0.38	0.42	0.45	0.48	0.50	0.34	0.38	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53
22	0.57	0.64	0.70	0.76	0.82	0.88	0.93	0.63	0.69	0.75	0.81	0.87	0.93	0.99	0.68	0.75	0.81	0.87	0.93	0.99	1.04
23	0.89	0.98	1.08	1.17	1.26	1.34	1.43	0.97	1.06	1.16	1.25	1.34	1.42	1.51	1.06	1.15	1.25	1.34	1.42	1.51	1.59
24	1.22	1.34	1.44	1.56	1.68	1.79	1.90	1.32	1.44	1.54	1.66	1.78	1.89	2.00	1.43	1.56	1.65	1.77	1.89	2.00	2.11
25	1.61	1.68	1.83	1.98	2.12	2.26	2.40	1.66	1.81	1.96	2.11	2.25	2.39	2.52	1.80	1.94	2.09	2.24	2.39	2.52	2.66
26	1.87	2.05	2.22	2.40	2.56	2.71	2.87	2.02	2.20	2.37	2.54	2.70	2.85	3.01	2.18	2.36	2.53	2.71	2.86	3.02	3.17
27	2.21	2.42	2.60	2.80	3.00	3.18	3.35	2.39	2.59	2.78	2.98	3.17	3.35	3.52	2.58	2.78	2.97	3.17	3.36	3.54	3.71
28	2.56	2.80	3.02	3.25	3.47	3.67	3.89	2.75	2.89	3.22	3.44	3.66	3.96	4.07	2.97	3.21	3.44	3.66	3.88	4.09	4.30
29	2.93	3.19	3.43	3.66	3.91	4.14	4.37	3.16	3.41	3.65	3.89	4.13	4.36	4.59	3.40	3.66	3.89	4.13	4.38	4.61	4.82
30	3.31	3.57	3.86	4.15	4.41	4.66	4.92	3.55	3.81	4.10	4.38	4.66	4.90	5.16	3.82	4.08	4.37	4.65	4.93	5.17	5.42

温度 / $^{\circ}\text{C}$



表 B. 7(续)

密度/ (g/mL)	19%vol 葡萄酒								21%vol 葡萄酒							
	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120		
10	3.14	3.48	3.83	4.17	4.48	4.78	5.07	3.50	3.84	4.19	4.52	4.83	5.12	5.41		
11	2.87	3.18	3.49	3.78	4.06	4.32	4.57	3.18	3.49	3.80	4.09	4.34	4.63	4.88		
12	2.58	2.96	3.13	3.39	3.65	3.88	4.10	2.86	3.13	3.41	3.67	3.92	4.15	4.37		
13	2.31	2.55	2.77	2.99	3.20	3.41	3.61	2.56	2.79	3.01	3.23	3.44	3.65	3.85		
14	2.03	2.23	2.43	2.61	2.80	2.96	3.13	2.23	2.43	2.63	2.81	3.00	3.16	3.33		
15	1.69	1.86	2.02	2.18	2.33	2.48	2.62	1.86	2.03	2.19	2.35	2.50	2.65	2.80		
16	1.38	1.52	1.65	1.78	1.90	2.02	2.13	1.51	1.65	1.78	1.91	2.03	2.15	2.26		
17	1.06	1.16	1.26	1.35	1.44	1.53	1.62	1.15	1.25	1.35	1.45	1.54	1.63	1.71		
18	0.73	0.79	0.85	0.92	0.98	1.03	1.09	0.79	0.85	0.92	0.98	1.05	1.10	1.15		
19	0.38	0.41	0.44	0.48	0.51	0.52	0.56	0.41	0.44	0.47	0.51	0.54	0.57	0.59		
20																
21	0.37	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53	0.56	0.41	0.44	0.47	0.51	0.54	0.57	0.59		
22	0.75	0.81	0.87	0.93	0.99	1.04	1.10	0.81	0.88	0.94	1.00	1.06	1.10	1.17		
23	1.15	1.30	1.34	1.43	1.51	1.60	1.68	1.25	1.34	1.44	1.63	1.61	1.70	1.78		
24	1.55	1.67	1.77	1.89	2.00	2.11	2.23	1.68	1.80	1.90	2.02	2.13	2.25	2.36		
25	1.95	2.09	2.24	2.39	2.53	2.67	2.71	2.11	2.25	2.40	2.55	2.69	2.83	2.97		
26	2.36	2.54	2.71	2.89	3.04	3.20	3.35	2.55	2.73	2.90	3.07	3.22	3.38	3.54		
27	2.79	2.99	3.18	3.38	3.57	3.75	3.92	3.01	3.20	3.40	3.59	3.78	3.96	4.13		
28	3.20	3.44	3.66	3.89	4.11	4.32	4.53	3.46	3.69	3.93	4.15	4.36	4.58	4.77		
29	3.66	3.92	4.15	4.40	4.64	4.87	5.08	3.95	4.20	4.43	4.68	4.92	5.15	5.36		
30	4.11	4.37	4.66	4.94	5.22	5.46	5.71	4.42	4.68	4.97	5.25	5.53	5.77	6.02		

温度 / °C



参 考 文 献

- [1] JAULMES P. *Bull. O. I. V.* ,1953,26, No 274,6.
- [2] JAULMES P. BRUN Mme S. , *Trav. Soc. Pharm. ,Montpellier*,1956,16,115;1960,20,137; *Ann, Fals, Exp, Chim.* ,1963,46,129 et 143.
- [3] BRUN Mme S,et TEP Y. , *Ann. Fals. Exp. Chim.* ,3740; *F. V. ,O. I. V.* ,1975, No 539.

20℃密度和比重(B)

1 定义

密度是指 20℃时,单位体积的葡萄酒或葡萄汁的质量。单位为 g/mL,用 $\rho_{20^\circ\text{C}}$ 表示。

20℃时的比重(或 20℃/20℃相对密度)是指 20℃葡萄酒或葡萄汁与相同温度下水的密度之比,结果为小数,用 $d_{20^\circ\text{C}}^{20^\circ\text{C}}$ 表示。

2 原理

采用液体比重法测定待测样品的密度和 20℃时的相对密度。

注:为保证结果准确度,密度和相对密度结果必须用二氧化硫进行校正。

$$\rho_{20^\circ\text{C}} = \rho'_{20^\circ\text{C}} - 0.0006 \times S$$

其中: $\rho_{20^\circ\text{C}}$ ——校正密度;

$\rho'_{20^\circ\text{C}}$ ——实测密度;

S——总二氧化硫浓度(g/L)。

3 样品前处理

如葡萄酒或葡萄汁样品中含有大量二氧化碳,可取 250 mL 样品于 1 000 mL 锥形瓶中,摇动以尽可能去除样品中的二氧化碳,或通过装有 2 g 脱脂棉的漏斗减压过滤以去除二氧化碳。

4 操作方法

4.1 设备

4.1.1 比重计,比重计的尺寸和刻度必须符合法国标准协会(AFNOR)的规定。比重计必须有圆柱形的瓶身,比重计柄的圆形横截面的直径不小于 3 mm。对于干型葡萄酒,测量范围应为 0.983~1.003,最小分度为 0.001 0 和 0.000 2。0.001 0 分度的两个刻度距离至少为 5 mm。对于无醇葡萄酒、甜型葡萄酒和葡萄汁,测量使用的比重计有 5 种,测量范围分别为 1.000~1.030,1.030~1.060,1.060~1.090,1.090~1.120 和 1.120~1.150。使用比重计测定 20℃时的密度时,最小分度为 0.001 0 和 0.000 5。0.001 0 分度的两个刻度距离至少为 3 mm。读数时,渐变刻度的比重计,或内附刻度纸的比重计,均读取弯月面相切处的数值。比重计必须经官方权威机构计量。

4.1.2 温度计,最小分度小于 0.5℃。

4.1.3 量筒,内径 36 mm,高度 320 mm,利用水平螺杆校正以保证垂直。

4.2 步骤

取 250 mL 待测样品放入于量筒中,插入温度计和比重计,混匀样品,等待 1 min 使温度平衡,并读取温度。取出温度计,再等待至少 1 min,读取 $t^\circ\text{C}$ 时比重计的刻度示值。为了校正温度对密度的影响,干型葡萄酒按照表 1,葡萄汁按照表 2,含糖葡萄酒按照表 3 对实测密度进行校正。将 20℃时的密度除以 0.998 203,即为 20℃/20℃的比重。



表 1

温度校正系数 C, 用于将 t℃ 时用普通玻璃比重瓶或比重计测定干型葡萄酒或无醇干型葡萄酒的密度校正至 20℃。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1\,000} \quad \begin{array}{l} - : t < 20^{\circ}\text{C} \\ + : t > 20^{\circ}\text{C} \end{array}$$

酒精度	0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
10	1.45	1.51	1.55	1.58	1.64	1.76	1.78	1.89	1.98	2.09	2.21	2.34	2.47	2.60	2.15	2.93	3.06	3.22	3.39	3.57	3.75	3.93	4.12	4.31
11	1.35	1.40	1.43	1.47	1.52	1.58	1.65	1.73	1.83	1.93	2.03	2.15	2.26	2.38	2.51	2.65	2.78	2.93	3.08	3.24	3.40	3.57	3.73	3.90
12	1.24	1.28	1.31	1.34	1.39	1.44	1.50	1.58	1.66	1.75	1.84	1.94	2.04	2.15	2.26	2.38	2.51	2.63	2.77	2.91	3.05	3.19	3.34	3.49
13	1.12	1.16	1.18	1.21	1.25	1.30	1.35	1.42	1.49	1.56	1.64	1.73	1.82	1.91	2.01	2.11	2.22	2.33	2.45	2.57	2.69	2.81	2.95	3.07
14	0.99	1.03	1.05	1.07	1.11	1.14	1.19	1.24	1.31	1.37	1.44	1.52	1.59	1.67	1.75	1.84	1.93	2.03	2.13	2.23	2.33	2.44	2.55	2.66
15	0.86	0.89	0.90	0.92	0.95	0.98	1.02	1.07	1.12	1.17	1.23	1.29	1.35	1.42	1.49	1.56	1.63	1.71	1.80	1.88	1.96	2.05	2.14	2.23
16	0.71	0.73	0.74	0.76	0.78	0.81	0.84	0.87	0.91	0.95	0.99	1.05	1.10	1.15	1.21	1.27	1.33	1.39	1.45	1.52	1.59	1.66	1.73	1.80
17	0.55	0.57	0.57	0.59	0.60	0.62	0.65	0.67	0.70	0.74	0.77	0.81	0.84	0.88	0.92	0.96	1.01	1.05	1.10	1.15	1.20	1.26	1.31	1.36
18	0.38	0.39	0.39	0.40	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48	0.50	0.52	0.55	0.57	0.60	0.62	0.65	0.68	0.71	0.74	0.78	0.81	0.85	0.88	0.91
19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.23	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.32	0.33	0.34	0.36	0.38	0.39	0.41	0.43	0.44	0.46
20																								
21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24	0.25	0.25	0.26	0.27	0.28	0.29	0.31	0.32	0.34	0.35	0.36	0.38	0.39	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48
22	0.43	0.45	0.45	0.46	0.47	0.49	0.50	0.52	0.54	0.56	0.58	0.60	0.62	0.65	0.68	0.71	0.73	0.77	0.80	0.83	0.86	0.89	0.93	0.96
23	0.67	0.69	0.70	0.71	0.72	0.74	0.77	0.79	0.82	0.85	0.88	0.91	0.95	0.99	1.03	1.07	1.12	1.16	1.21	1.25	1.30	1.35	1.40	1.45
24	0.91	0.93	0.95	0.97	0.99	1.01	1.04	1.07	1.11	1.15	1.20	1.24	1.29	1.34	1.39	1.45	1.50	1.56	1.62	1.69	1.76	1.82	1.88	1.95
25	1.16	1.19	1.21	1.23	1.26	1.29	1.33	1.37	1.42	1.47	1.52	1.57	1.63	1.70	1.76	1.83	1.90	1.97	2.05	2.13	2.21	2.29	2.37	2.45
26	1.42	1.46	1.49	1.51	1.54	1.58	1.62	1.67	1.73	1.79	1.85	1.92	1.99	2.07	2.14	2.22	2.31	2.40	2.49	2.58	2.67	2.77	2.86	2.96
27	1.69	1.74	1.77	1.80	1.83	1.88	1.93	1.98	2.05	2.12	2.20	2.27	2.35	2.44	2.53	2.63	2.72	2.82	2.93	3.04	3.14	3.25	3.37	3.48
28	1.97	2.03	2.06	2.09	2.14	2.19	2.24	2.31	2.38	2.46	2.55	2.63	2.73	2.83	2.93	3.03	3.14	3.26	3.38	3.50	3.62	3.75	3.85	4.00
29	2.26	2.33	2.37	2.41	2.45	2.50	2.57	2.64	2.73	2.82	2.91	2.99	3.11	3.22	3.34	3.46	3.58	3.70	3.84	3.97	4.11	4.25	4.39	4.54
30	2.56	2.64	2.67	2.72	2.77	2.83	2.90	2.98	3.08	3.18	3.28	3.38	3.50	3.62	3.75	3.88	4.02	4.16	4.30	4.46	4.61	4.76	4.92	5.07

温度 / °C

注:本表可用于将 $d_{20^{\circ}\text{C}}^{\text{酒}}$ 转换为 $d_{20^{\circ}\text{C}}^{\text{水}}$ 。

表 2

温度校正系数 C, 用于将 t℃ 时用普通玻璃比重瓶或比重计测定的普通葡萄酒或浓缩葡萄酒的密度校正至 20℃。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1000} \quad - : t < 20^{\circ}\text{C} \quad + : t > 20^{\circ}\text{C}$$

密度/(g/mL)	1.05	1.06	1.07	1.08	1.09	1.10	1.11	1.12	1.13	1.14	1.15	1.16	1.18	1.20	1.22	1.24	1.26	1.28	1.30	1.32	1.34	1.36
10	2.17	2.34	2.52	2.68	2.85	2.99	3.16	3.29	3.44	3.58	3.73	3.86	4.13	4.36	4.60	4.82	5.02	5.25	5.39	5.56	5.73	5.87
11	2.00	2.16	2.29	2.44	2.59	2.73	2.86	2.99	3.12	3.24	3.37	3.48	3.71	3.94	4.15	4.33	4.52	4.69	4.85	5.01	5.15	5.29
12	1.81	1.95	2.08	2.21	2.34	2.47	2.58	2.70	2.82	2.92	3.03	3.14	3.35	3.55	3.72	3.90	4.07	4.23	4.37	4.52	4.64	4.77
13	1.62	1.74	1.85	1.96	2.07	2.17	2.28	2.38	2.48	2.59	2.68	2.77	2.94	3.11	3.28	3.44	3.54	3.72	3.86	3.99	4.12	4.24
14	1.44	1.54	1.64	1.73	1.82	1.92	2.00	2.08	2.17	2.25	2.34	2.42	2.57	2.73	2.86	2.99	3.12	3.24	3.35	3.46	3.57	3.65
15	1.21	1.29	1.37	1.45	1.53	1.60	1.68	1.75	1.82	1.89	1.97	2.03	2.16	2.28	2.40	2.51	2.61	2.71	2.80	2.89	2.94	3.01
16	1.00	1.06	1.12	1.19	1.25	1.31	1.37	1.43	1.49	1.54	1.60	1.65	1.75	1.84	1.94	2.02	2.09	2.17	2.23	2.30	2.36	2.42
17	0.76	0.82	0.86	0.91	0.96	1.00	1.05	1.09	1.14	1.18	1.22	1.25	1.32	1.39	1.46	1.52	1.57	1.63	1.67	1.71	1.75	1.79
18	0.53	0.56	0.59	0.63	0.65	0.69	0.72	0.74	0.77	0.80	0.82	0.85	0.90	0.95	0.99	1.02	1.05	1.09	1.13	1.16	1.18	1.20
19	0.28	0.30	0.31	0.33	0.35	0.36	0.38	0.39	0.41	0.42	0.43	0.43	0.46	0.48	0.50	0.52	0.54	0.55	0.57	0.58	0.59	0.60
20																						
21	0.28	0.29	0.31	0.33	0.34	0.36	0.37	0.39	0.40	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48	0.51	0.54	0.56	0.57	0.58	0.59	0.60	0.60
22	0.55	0.58	0.61	0.64	0.67	0.70	0.73	0.76	0.78	0.81	0.84	0.87	0.93	0.97	1.02	1.06	1.09	1.12	1.15	1.17	1.19	1.19
23	0.85	0.90	0.95	0.99	1.04	1.08	1.12	1.16	1.21	1.25	1.29	1.32	1.39	1.46	1.52	1.58	1.62	1.68	1.72	1.75	1.77	1.79
24	1.15	1.19	1.25	1.31	1.37	1.43	1.48	1.54	1.60	1.65	1.71	1.76	1.86	1.95	2.04	2.11	2.17	2.23	2.29	2.33	2.35	2.37
25	1.44	1.52	1.59	1.67	1.74	1.81	1.88	1.95	2.02	2.09	2.16	2.22	2.34	2.45	2.55	2.64	2.74	2.81	2.87	2.90	2.92	2.96
26	1.76	1.84	1.93	2.02	2.10	2.18	2.25	2.33	2.41	2.49	2.56	2.64	2.78	2.91	3.03	3.15	3.26	3.37	3.47	3.55	3.62	3.60
27	2.07	2.16	2.26	2.36	2.46	2.56	2.65	2.74	2.83	2.91	3.00	3.07	3.24	3.39	3.55	3.69	3.82	3.94	4.04	4.14	4.23	4.30
28	2.39	2.51	2.63	2.74	2.85	2.96	3.06	3.16	3.28	3.38	3.48	3.57	3.75	3.92	4.08	4.23	4.37	4.51	4.62	4.73	4.80	4.86
29	2.74	2.86	2.97	3.09	3.22	3.34	3.46	3.57	3.69	3.90	3.90	4.00	4.20	4.39	4.58	4.74	4.90	5.05	5.19	5.31	5.40	5.48
30	3.06	3.21	3.35	3.50	3.63	3.77	3.91	4.02	4.15	4.28	4.40	4.52	4.75	4.96	5.16	5.35	5.52	5.67	5.79	5.91	5.99	6.04

温度 / °C

注: 本表可用于将 $d_{20}^{t^{\circ}\text{C}}$ 转换为 $d_{20}^{20^{\circ}\text{C}}$ 。



表 3

温度校正系数 C , 用于将 $t^{\circ}\text{C}$ 时用普通玻璃比重瓶或比重计测定的甜酒的密度校正至 20°C 。

$$\rho_{20^{\circ}\text{C}} = \rho_{t^{\circ}\text{C}} \pm \frac{C}{1\ 000} \quad - : t < 20^{\circ}\text{C} \quad + : t > 20^{\circ}\text{C}$$

密度/ (g/mL)	13% vol 葡萄酒						15% vol 葡萄酒						17% vol 葡萄酒								
	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120
10	2.24	2.58	2.93	3.27	3.59	3.89	4.18	2.51	2.85	3.20	3.54	3.85	4.02	4.46	2.81	3.15	3.50	3.84	4.15	4.45	4.74
11	2.06	2.37	2.69	2.97	3.26	3.53	3.78	2.31	2.61	2.93	3.21	3.51	3.64	4.02	2.57	2.89	3.20	3.49	3.77	4.03	4.28
12	1.87	2.14	2.42	2.67	2.94	3.17	3.40	2.09	2.36	2.64	2.90	3.16	3.27	3.61	2.32	2.60	2.87	3.13	3.39	3.63	3.84
13	1.69	1.93	2.14	2.37	2.59	2.80	3.00	1.88	2.12	2.34	2.56	2.78	2.88	3.19	2.09	2.33	2.55	2.77	2.98	3.19	3.39
14	1.49	1.70	1.90	2.09	2.27	2.44	2.61	1.67	1.86	2.06	2.25	2.45	2.51	2.77	1.83	2.03	2.23	2.42	2.61	2.77	2.94
15	1.25	1.42	1.59	1.75	1.90	2.05	2.19	1.39	1.56	1.72	1.88	2.03	2.11	2.32	1.54	1.71	1.87	2.03	2.18	2.32	2.47
16	1.03	1.17	1.30	1.43	1.55	1.67	1.78	1.06	1.27	1.40	1.53	1.65	1.77	1.88	1.25	1.39	1.52	1.65	1.77	1.89	2.00
17	0.80	0.90	1.00	1.09	1.17	1.27	1.36	0.87	0.98	1.08	1.17	1.26	1.35	1.44	0.96	1.06	1.16	1.26	1.35	1.44	1.52
18	0.54	0.61	0.68	0.75	0.81	0.86	0.92	0.60	0.66	0.73	0.80	0.85	0.91	0.97	0.66	0.72	0.79	0.86	0.92	0.97	1.03
19	0.29	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.32	0.36	0.39	0.42	0.45	0.48	0.51	0.35	0.38	0.41	0.45	0.48	0.51	0.53
20																					
21	0.29	0.32	0.35	0.39	0.42	0.45	0.47	0.32	0.35	0.38	0.42	0.45	0.48	0.50	0.34	0.38	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53
22	0.57	0.64	0.70	0.76	0.82	0.88	0.93	0.63	0.69	0.75	0.81	0.87	0.93	0.99	0.68	0.75	0.81	0.87	0.93	0.99	1.04
23	0.89	0.98	1.08	1.17	1.26	1.34	1.43	0.97	1.06	1.16	1.25	1.34	1.42	1.51	1.06	1.15	1.25	1.34	1.42	1.51	1.59
24	1.22	1.34	1.44	1.56	1.68	1.79	1.90	1.32	1.44	1.54	1.66	1.78	1.89	2.00	1.43	1.56	1.65	1.77	1.89	2.00	2.11
25	1.61	1.68	1.83	1.98	2.12	2.26	2.40	1.66	1.81	1.96	2.11	2.25	2.39	2.52	1.80	1.94	2.09	2.24	2.39	2.52	2.66
26	1.87	2.05	2.22	2.40	2.56	2.71	2.87	2.02	2.20	2.37	2.54	2.70	2.85	3.01	2.18	2.36	2.53	2.71	2.86	3.02	3.17
27	2.21	2.42	2.60	2.80	3.00	3.18	3.35	2.39	2.59	2.78	2.98	3.17	3.35	3.52	2.58	2.78	2.97	3.17	3.36	3.54	3.71
28	2.56	2.80	3.02	3.25	3.47	3.67	3.89	2.75	2.89	3.22	3.44	3.66	3.96	4.07	2.97	3.21	3.44	3.66	3.88	4.09	4.30
29	2.93	3.19	3.43	3.66	3.91	4.14	4.37	3.16	3.41	3.65	3.89	4.13	4.36	4.59	3.40	3.66	3.89	4.13	4.38	4.61	4.82
30	3.31	3.57	3.86	4.15	4.41	4.66	4.92	3.55	3.81	4.10	4.38	4.66	4.90	5.16	3.82	4.08	4.37	4.65	4.93	5.17	5.42

温度 / $^{\circ}\text{C}$



表 3(续)

密度/ (g/mL)	19%vol 葡萄酒										21%vol 葡萄酒										
	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120	1.000	1.020	1.040	1.060	1.080	1.100	1.120
10	3.14	3.48	3.83	4.17	4.48	4.78	5.07	3.50	3.84	4.19	4.52	4.83	5.12	5.41	3.50	3.84	4.19	4.52	4.83	5.12	5.41
11	2.87	3.18	3.49	3.78	4.06	4.32	4.57	3.18	3.49	3.80	4.09	4.34	4.63	4.88	3.18	3.49	3.80	4.09	4.34	4.63	4.88
12	2.58	2.96	3.13	3.39	3.65	3.88	4.10	2.86	3.13	3.41	3.67	3.92	4.15	4.37	2.86	3.13	3.41	3.67	3.92	4.15	4.37
13	2.31	2.55	2.77	2.99	3.20	3.41	3.61	2.56	2.79	3.01	3.23	3.44	3.65	3.85	2.56	2.79	3.01	3.23	3.44	3.65	3.85
14	2.03	2.23	2.43	2.61	2.80	2.96	3.13	2.23	2.43	2.63	2.81	3.00	3.16	3.33	2.23	2.43	2.63	2.81	3.00	3.16	3.33
15	1.69	1.86	2.02	2.18	2.33	2.48	2.62	1.86	2.03	2.19	2.35	2.50	2.65	2.80	1.86	2.03	2.19	2.35	2.50	2.65	2.80
16	1.38	1.52	1.65	1.78	1.90	2.02	2.13	1.51	1.65	1.78	1.91	2.03	2.15	2.26	1.51	1.65	1.78	1.91	2.03	2.15	2.26
17	1.06	1.16	1.26	1.35	1.44	1.53	1.62	1.15	1.25	1.35	1.45	1.54	1.63	1.71	1.15	1.25	1.35	1.45	1.54	1.63	1.71
18	0.73	0.79	0.85	0.92	0.98	1.03	1.09	0.79	0.85	0.92	0.98	1.05	1.10	1.15	0.79	0.85	0.92	0.98	1.05	1.10	1.15
19	0.38	0.41	0.44	0.48	0.51	0.52	0.56	0.41	0.44	0.47	0.51	0.54	0.57	0.59	0.41	0.44	0.47	0.51	0.54	0.57	0.59
20																					
21	0.37	0.41	0.44	0.47	0.50	0.53	0.56	0.41	0.44	0.47	0.51	0.54	0.57	0.59	0.41	0.44	0.47	0.51	0.54	0.57	0.59
22	0.75	0.81	0.87	0.93	0.99	1.04	1.10	0.81	0.88	0.94	1.00	1.06	1.10	1.17	0.81	0.88	0.94	1.00	1.06	1.10	1.17
23	1.15	1.30	1.34	1.43	1.51	1.60	1.68	1.25	1.34	1.44	1.63	1.61	1.70	1.78	1.25	1.34	1.44	1.63	1.61	1.70	1.78
24	1.55	1.67	1.77	1.89	2.00	2.11	2.23	1.68	1.80	1.90	2.02	2.13	2.25	2.36	1.68	1.80	1.90	2.02	2.13	2.25	2.36
25	1.95	2.09	2.24	2.39	2.53	2.67	2.71	2.11	2.25	2.40	2.55	2.69	2.83	2.97	2.11	2.25	2.40	2.55	2.69	2.83	2.97
26	2.36	2.54	2.71	2.89	3.04	3.20	3.35	2.55	2.73	2.90	3.07	3.22	3.38	3.54	2.55	2.73	2.90	3.07	3.22	3.38	3.54
27	2.79	2.99	3.18	3.38	3.57	3.75	3.92	3.01	3.20	3.40	3.59	3.78	3.96	4.13	3.01	3.20	3.40	3.59	3.78	3.96	4.13
28	3.20	3.44	3.66	3.89	4.11	4.32	4.53	3.46	3.69	3.93	4.15	4.36	4.58	4.77	3.46	3.69	3.93	4.15	4.36	4.58	4.77
29	3.66	3.92	4.15	4.40	4.64	4.87	5.08	3.95	4.20	4.43	4.68	4.92	5.15	5.36	3.95	4.20	4.43	4.68	4.92	5.15	5.36
30	4.11	4.37	4.66	4.94	5.22	5.46	5.71	4.42	4.68	4.97	5.25	5.53	5.77	6.02	4.42	4.68	4.97	5.25	5.53	5.77	6.02

温度 / °C

参 考 文 献

- [1] JAULMES P. ,Bull, O. I. V. ,1953,26, No 274,6.
- [2] JAULMES P. ,BRUN Mme S. ,*Trav. Soc. Pharm. . Montpellier.* 1956,16,115;1960,20.137;*Ann. Fals. Exp. Chim.* ,1963,46,129 et 143.
- [3] BRUN Mme S. et TEP Y. ,*Ann. Fals. Exp. Chim.* ,3740;F, V. ,O. I. V. ,1975, No 539.

折光法测定葡萄、葡萄汁、浓缩葡萄汁和 精馏浓缩葡萄汁中含糖量

(决议 Oeno 21/2004)

(决议 Oeno 466/2012 修订)

1 原理

葡萄、葡萄汁、浓缩葡萄汁和精馏浓缩葡萄汁的含糖量可通过 20℃ 条件下的折光指数查表求出,以蔗糖的绝对值或质量百分数表示,单位以 g/L 或 g/kg 表示。

2 仪器

阿贝(Abbe)折光仪。折光仪要求能测定蔗糖质量分数,精确至 0.1%;或者折射率,精确至小数点后第四位。

折光仪应配备温度计,温度范围至少为 15℃~25℃。还应配备水循环装置,使折光仪可在 20℃±5℃ 的温度范围内进行测定。

必须严格遵守仪器的使用操作规范,应重点注意仪器的校准和光源情况。

3 试样制备

3.1 葡萄汁和浓缩葡萄汁

葡萄汁通过四重折叠的干燥纱布过滤,弃去最开始的几滴滤液,收集的滤液之后进行测定。

3.2 精馏浓缩葡萄汁

根据精馏浓缩葡萄汁含糖量的不同,直接进行测定或测定者精确称取 200 g~500 g 样品进行测定。

4 操作方法

将试样的温度控制在 20℃ 左右。

将几滴试样置于折光仪的棱镜下半部分上,并小心合上上半部分的棱镜,使试样均匀地覆盖在玻璃表面上,按照所用仪器的操作规程进行测定。

读出蔗糖的质量分数,精确至 0.1%;或者读出折光指数,精确至小数点后第四位。

同一试样至少重复测定 2 次。注明测定时的温度 $t^{\circ}\text{C}$ 。

5 结果计算

5.1 温度校正

——如仪器是按蔗糖的质量百分数作刻度,校正温度时可参见表 1;

——如仪器是按折光指数作刻度,根据在 $t^{\circ}\text{C}$ 测得的折光指数,查看表 2(第 1 列),找到 $t^{\circ}\text{C}$ 时蔗糖质量百分数的对应值,再对此值进行校正,利用表 1 查出 20℃ 时的值。



5.2 葡萄汁和浓缩葡萄汁中的含糖量

根据表 2 查找在 20℃时蔗糖的质量百分含量,在同一行中可同时查找葡萄汁或者浓缩葡萄汁的含糖量,单位为 g/L 或者 g/kg。含糖量精确至小数点后一位。

5.3 精馏浓缩葡萄汁中的含糖量

根据表 3 查找在 20℃时蔗糖的质量百分含量,在同一行中同时可查找精馏浓缩葡萄汁的含糖量,单位为 g/L 或者 g/kg。含糖量精确至小数点后一位。

如果测定的是经稀释的葡萄汁,结果应乘以稀释倍数。

5.4 葡萄汁、浓缩葡萄汁和精馏浓缩葡萄汁的折光指数

根据表 2 查找在 20℃时蔗糖的质量百分含量,在同一行中可查找 20℃时的折光指数。结果精确至小数点后四位。

表 1 将蔗糖质量百分比浓度从测定温度校正到 20℃ 时的校正值

温度/℃	测量质量百分率/%													
	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75
5	-0.82	-0.87	-0.92	-0.95	-0.99									
6	-0.80	-0.82	-0.87	-0.90	-0.94									
7	-0.74	-0.78	-0.82	-0.84	-0.88									
8	-0.69	-0.73	-0.76	-0.79	-0.82									
9	-0.64	-0.67	-0.71	-0.73	-0.75									
10	-0.59	-0.62	-0.65	-0.67	-0.69	-0.71	-0.72	-0.73	-0.74	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75	-0.75
11	-0.54	-0.57	-0.59	-0.61	-0.63	-0.64	-0.65	-0.66	-0.67	-0.68	-0.68	-0.68	-0.68	-0.67
12	-0.49	-0.51	-0.53	-0.55	-0.56	-0.57	-0.58	-0.59	-0.60	-0.60	-0.61	-0.61	-0.61	-0.60
13	-0.43	-0.45	-0.47	-0.48	-0.50	-0.51	-0.52	-0.52	-0.53	-0.53	-0.53	-0.53	-0.53	-0.53
14	-0.38	-0.39	-0.40	-0.42	-0.43	-0.44	-0.44	-0.45	-0.45	-0.46	-0.46	-0.46	-0.46	-0.45
15	-0.32	-0.33	-0.34	-0.35	-0.36	-0.37	-0.37	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38
16	-0.26	-0.27	-0.28	-0.28	-0.29	-0.30	-0.30	-0.30	-0.31	-0.31	-0.31	-0.31	-0.31	-0.30
17	-0.20	-0.20	-0.21	-0.21	-0.22	-0.22	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23
18	-0.13	-0.14	-0.14	-0.14	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15
19	-0.07	-0.07	-0.07	-0.07	-0.07	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08
20	0													
21	+0.07	+0.07	+0.07	+0.07	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08
22	+0.14	+0.14	+0.15	+0.15	+0.15	+0.15	+0.16	+0.16	+0.16	+0.16	+0.16	+0.16	+0.16	+0.15
23	+0.21	+0.22	+0.22	+0.23	+0.23	+0.23	+0.23	+0.24	+0.24	+0.24	+0.24	+0.24	+0.23	+0.23



表1(续)

温度/℃	测量质量百分率/%															
	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75		
24	+0.29	+0.29	+0.30	+0.30	+0.31	+0.31	+0.31	+0.32	+0.32	+0.32	+0.32	+0.31	+0.31	+0.31		
25	+0.36	+0.37	+0.38	+0.38	+0.39	+0.39	+0.40	+0.40	+0.40	+0.40	+0.40	+0.39	+0.39	+0.39		
26	+0.44	+0.45	+0.46	+0.46	+0.47	+0.47	+0.48	+0.48	+0.48	+0.48	+0.48	+0.47	+0.47	+0.46		
27	+0.52	+0.53	+0.54	+0.55	+0.55	+0.56	+0.56	+0.56	+0.56	+0.56	+0.56	+0.55	+0.55	+0.54		
28	+0.60	+0.61	+0.62	+0.63	+0.64	+0.64	+0.64	+0.65	+0.65	+0.64	+0.64	+0.64	+0.63	+0.62		
29	+0.68	+0.69	+0.70	+0.71	+0.72	+0.73	+0.73	+0.73	+0.73	+0.73	+0.72	+0.72	+0.71	+0.70		
30	+0.77	+0.78	+0.79	+0.80	+0.81	+0.81	+0.81	+0.82	+0.81	+0.81	+0.81	+0.80	+0.79	+0.78		
31	+0.85	+0.87	+0.88	+0.89	+0.89	+0.90	+0.90	+0.90	+0.90	+0.90	+0.89	+0.88	+0.87	+0.86		
32	+0.94	+0.95	+0.96	+0.97	+0.98	+0.99	+0.99	+0.99	+0.99	+0.98	+0.97	+0.96	+0.95	+0.94		
33	+1.03	+1.04	+1.05	+1.06	+1.07	+1.08	+1.08	+1.08	+1.07	+1.07	+1.06	+1.05	+1.03	+1.02		
34	+1.12	+1.19	+1.15	+1.15	+1.16	+1.17	+1.17	+1.17	+1.16	+1.15	+1.14	+1.13	+1.12	+1.10		
35	+1.22	+1.23	+1.24	+1.25	+1.25	+1.26	+1.26	+1.25	+1.25	+1.24	+1.23	+1.21	+1.20	+1.18		
36	+1.31	+1.32	+1.33	+1.34	+1.35	+1.35	+1.35	+1.35	+1.34	+1.33	+1.32	+1.30	+1.28	+1.26		
37	+1.41	+1.42	+1.43	+1.44	+1.44	+1.44	+1.44	+1.44	+1.43	+1.42	+1.40	+1.38	+1.36	+1.34		
38	+1.51	+1.52	+1.53	+1.53	+1.54	+1.54	+1.53	+1.53	+1.52	+1.51	+1.49	+1.47	+1.45	+1.42		
39	+1.61	+1.62	+1.62	+1.63	+1.63	+1.63	+1.63	+1.62	+1.61	+1.60	+1.58	+1.56	+1.53	+1.50		
40	+1.71	+1.72	+1.72	+1.73	+1.73	+1.73	+1.72	+1.71	+1.70	+1.69	+1.67	+1.64	+1.62	+1.59		

注:温度变化最好在 20℃±5℃范围内。

表 2 20℃ 时葡萄汁及浓缩葡萄汁的含糖量与其蔗糖质量百分含量、折光指数和密度的对应关系

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
10.0	1.347 82	1.039 1	82.2	79.1	4.89
10.1	1.347 98	1.039 5	83.3	80.1	4.95
10.2	1.348 13	1.039 9	84.3	81.1	5.01
10.3	1.348 29	1.040 3	85.4	82.1	5.08
10.4	1.348 44	1.040 7	86.5	83.1	5.14
10.5	1.348 60	1.041 1	87.5	84.1	5.20
10.6	1.348 75	1.041 5	88.6	85.0	5.27
10.7	1.348 91	1.041 9	89.6	86.0	5.32
10.8	1.349 06	1.042 3	90.7	87.0	5.39
10.9	1.349 22	1.042 7	91.8	88.0	5.46
11.0	1.349 37	1.043 1	92.8	89.0	5.52
11.1	1.349 53	1.043 6	93.9	90.0	5.58
11.2	1.349 68	1.044 0	95.0	91.0	5.65
11.3	1.349 84	1.044 4	96.0	92.0	5.71
11.4	1.349 99	1.044 8	97.1	92.9	5.77
11.5	1.350 15	1.045 2	98.2	93.9	5.84
11.6	1.350 31	1.045 6	99.3	94.9	5.90
11.7	1.350 46	1.046 0	100.3	95.9	5.96
11.8	1.350 62	1.046 4	101.4	96.9	6.03
11.9	1.350 77	1.046 8	102.5	97.9	6.09
12.0	1.350 93	1.047 2	103.5	98.9	6.15
12.1	1.351 09	1.047 7	104.6	99.9	6.22
12.2	1.351 24	1.048 1	105.7	100.8	6.28
12.3	1.351 40	1.048 5	106.8	101.8	6.35
12.4	1.351 56	1.048 9	107.8	102.8	6.41
12.5	1.351 71	1.049 3	108.9	103.8	6.47
12.6	1.351 87	1.049 7	110.0	104.8	6.54
12.7	1.352 03	1.050 1	111.1	105.8	6.60
12.8	1.352 19	1.050 6	112.2	106.8	6.67
12.9	1.352 34	1.051 0	113.2	107.8	6.73
13.0	1.352 50	1.051 4	114.3	108.7	6.79

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量 (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
13.1	1.352 66	1.051 8	115.4	109.7	6.86
13.2	1.352 82	1.052 2	116.5	110.7	6.92
13.3	1.352 98	1.052 7	117.6	111.7	6.99
13.4	1.353 13	1.053 1	118.7	112.7	7.05
13.5	1.353 29	1.053 5	119.7	113.7	7.11
13.6	1.353 45	1.053 9	120.8	114.7	7.18
13.7	1.353 61	1.054 3	121.9	115.6	7.24
13.8	1.353 77	1.054 8	123.0	116.6	7.31
13.9	1.353 93	1.055 2	124.1	117.6	7.38
14.0	1.354 08	1.055 6	125.2	118.6	7.44
14.1	1.354 24	1.056 0	126.3	119.6	7.51
14.2	1.354 40	1.056 4	127.4	120.6	7.57
14.3	1.354 56	1.056 9	128.5	121.6	7.64
14.4	1.354 72	1.057 3	129.6	122.5	7.70
14.5	1.354 88	1.057 7	130.6	123.5	7.76
14.6	1.355 04	1.058 1	131.7	124.5	7.83
14.7	1.355 20	1.058 6	132.8	125.5	7.89
14.8	1.355 36	1.059 0	133.9	126.5	7.96
14.9	1.355 52	1.059 4	135.0	127.5	8.02
15.0	1.355 68	1.059 8	136.1	128.4	8.09
15.1	1.355 84	1.060 3	137.2	129.4	8.15
15.2	1.356 00	1.060 7	138.3	130.4	8.22
15.3	1.356 16	1.061 1	139.4	131.4	8.28
15.4	1.356 32	1.061 6	140.5	132.4	8.35
15.5	1.356 48	1.062 0	141.6	133.4	8.42
15.6	1.356 64	1.062 4	142.7	134.3	8.48
15.7	1.356 80	1.062 8	143.8	135.3	8.55
15.8	1.356 96	1.063 3	144.9	136.3	8.61
15.9	1.357 13	1.063 7	146.0	137.3	8.68
16.0	1.357 29	1.064 1	147.1	138.3	8.74
16.1	1.357 45	1.064 6	148.2	139.3	8.81

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
16.2	1.357 61	1.065 0	149.3	140.2	8.87
16.3	1.357 77	1.065 4	150.5	141.2	8.94
16.4	1.357 93	1.065 9	151.6	142.2	9.01
16.5	1.358 10	1.066 3	152.7	143.2	9.07
16.6	1.358 26	1.066 7	153.8	144.2	9.14
16.7	1.358 42	1.067 2	154.9	145.1	9.21
16.8	1.358 58	1.067 6	156.0	146.1	9.27
16.9	1.358 74	1.068 0	157.1	147.1	9.34
17.0	1.358 91	1.068 5	158.2	148.1	9.40
17.1	1.359 07	1.068 9	159.3	149.1	9.47
17.2	1.359 23	1.069 3	160.4	150.0	9.53
17.3	1.359 40	1.069 8	161.6	151.0	9.60
17.4	1.359 56	1.070 2	162.7	152.0	9.67
17.5	1.359 72	1.070 7	163.8	153.0	9.73
17.6	1.359 89	1.071 1	164.9	154.0	9.80
17.7	1.360 05	1.071 5	166.0	154.9	9.87
17.8	1.360 21	1.072 0	167.1	155.9	9.93
17.9	1.360 38	1.072 4	168.3	156.9	10.00
18.0	1.360 54	1.072 9	169.4	157.9	10.07
18.1	1.360 70	1.073 3	170.5	158.9	10.13
18.2	1.360 87	1.073 7	171.6	159.8	10.20
18.3	1.361 03	1.074 2	172.7	160.8	10.26
18.4	1.361 20	1.074 6	173.9	161.8	10.33
18.5	1.361 36	1.075 1	175.0	162.8	10.40
18.6	1.361 53	1.075 5	176.1	163.7	10.47
18.7	1.361 69	1.076 0	177.2	164.7	10.53
18.8	1.361 85	1.076 4	178.4	165.7	10.60
18.9	1.362 02	1.076 8	179.5	166.7	10.67
19.0	1.362 19	1.077 3	180.6	167.6	10.73
19.1	1.362 35	1.077 7	181.7	168.6	10.80
19.2	1.362 52	1.078 2	182.9	169.6	10.87

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
19.3	1.362 68	1.078 6	184.0	170.6	10.94
19.4	1.362 85	1.079 1	185.1	171.5	11.00
19.5	1.363 01	1.079 5	186.2	172.5	11.07
19.6	1.363 18	1.080 0	187.4	173.5	11.14
19.7	1.363 34	1.080 4	188.5	174.5	11.20
19.8	1.363 51	1.080 9	189.6	175.4	11.27
19.9	1.363 68	1.081 3	190.8	176.4	11.34
20.0	1.363 84	1.081 8	191.9	177.4	11.40
20.1	1.364 01	1.082 2	193.0	178.4	11.47
20.2	1.364 18	1.082 7	194.2	179.3	11.54
20.3	1.364 34	1.083 1	195.3	180.3	11.61
20.4	1.364 51	1.083 6	196.4	181.3	11.67
20.5	1.364 68	1.084 0	197.6	182.3	11.74
20.6	1.364 84	1.084 5	198.7	183.2	11.81
20.7	1.365 01	1.084 9	199.8	184.2	11.87
20.8	1.365 18	1.085 4	201.0	185.2	11.95
20.9	1.365 35	1.085 8	202.1	186.1	12.01
21.0	1.365 51	1.086 3	203.3	187.1	12.08
21.1	1.365 68	1.086 7	204.4	188.1	12.15
21.2	1.365 85	1.087 2	205.5	189.1	12.21
21.3	1.366 02	1.087 6	206.7	190.0	12.28
21.4	1.366 19	1.088 1	207.8	191.0	12.35
21.5	1.366 35	1.088 5	209.0	192.0	12.42
21.6	1.366 52	1.089 0	210.1	192.9	12.49
21.7	1.366 69	1.089 5	211.3	193.9	12.56
21.8	1.366 86	1.089 9	212.4	194.9	12.62
21.9	1.367 03	1.090 4	213.6	195.9	12.69
22.0	1.367 20	1.090 8	214.7	196.8	12.76
22.1	1.367 37	1.091 3	215.9	197.8	12.83
22.2	1.367 54	1.091 7	217.0	198.8	12.90
22.3	1.367 71	1.092 2	218.2	199.7	12.97

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m) %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
22.4	1.367 87	1.092 7	219.3	200.7	13.03
22.5	1.368 04	1.093 1	220.5	201.7	13.10
22.6	1.368 21	1.093 6	221.6	202.6	13.17
22.7	1.368 38	1.094 0	222.8	203.6	13.24
22.8	1.368 55	1.094 5	223.9	204.6	13.31
22.9	1.368 72	1.095 0	225.1	205.5	13.38
23.0	1.368 89	1.095 4	226.2	206.5	13.44
23.1	1.369 06	1.095 9	227.4	207.5	13.51
23.2	1.369 24	1.096 4	228.5	208.4	13.58
23.3	1.369 41	1.096 8	229.7	209.4	13.65
23.4	1.369 58	1.097 3	230.8	210.4	13.72
23.5	1.369 75	1.097 7	232.0	211.3	13.79
23.6	1.369 92	1.098 2	233.2	212.3	13.86
23.7	1.370 09	1.098 7	234.3	213.3	13.92
23.8	1.370 26	1.099 1	235.5	214.2	14.00
23.9	1.370 43	1.099 6	236.6	215.2	14.06
24.0	1.370 60	1.100 1	237.8	216.2	14.13
24.1	1.370 78	1.100 5	239.0	217.1	14.20
24.2	1.370 95	1.101 0	240.1	218.1	14.27
24.3	1.371 12	1.101 5	241.3	219.1	14.34
24.4	1.371 29	1.101 9	242.5	220.0	14.41
24.5	1.371 46	1.102 4	243.6	221.0	14.48
24.6	1.371 64	1.102 9	244.8	222.0	14.55
24.7	1.371 81	1.103 3	246.0	222.9	14.62
24.8	1.371 98	1.103 8	247.1	223.9	14.69
24.9	1.372 16	1.104 3	248.3	224.8	14.76
25.0	1.372 33	1.104 7	249.5	225.8	14.83
25.1	1.372 50	1.105 2	250.6	226.8	14.89
25.2	1.372 67	1.105 7	251.8	227.7	14.96
25.3	1.372 85	1.106 2	253.0	228.7	15.04
25.4	1.373 02	1.106 6	254.1	229.7	15.10

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
25.5	1.373 19	1.107 1	255.3	230.6	15.17
25.6	1.373 37	1.107 6	256.5	231.6	15.24
25.7	1.373 54	1.108 0	257.7	232.5	15.32
25.8	1.373 72	1.108 5	258.8	233.5	15.38
25.9	1.373 89	1.109 0	260.0	234.5	15.45
26.0	1.374 07	1.109 5	261.2	235.4	15.52
26.1	1.374 24	1.109 9	262.4	236.4	15.59
26.2	1.374 41	1.110 4	263.6	237.3	15.67
26.3	1.374 59	1.110 9	264.7	238.3	15.73
26.4	1.374 76	1.111 4	265.9	239.3	15.80
26.5	1.374 94	1.111 8	267.1	240.2	15.87
26.6	1.375 11	1.112 3	268.3	241.2	15.95
26.7	1.375 29	1.112 8	269.5	242.1	16.02
26.8	1.375 46	1.113 3	270.6	243.1	16.08
26.9	1.375 64	1.113 8	271.8	244.1	16.15
27.0	1.375 82	1.114 2	273.0	245.0	16.22
27.1	1.375 99	1.114 7	274.2	246.0	16.30
27.2	1.376 17	1.115 2	275.4	246.9	16.37
27.3	1.376 34	1.115 7	276.6	247.9	16.44
27.4	1.376 52	1.116 1	277.8	248.9	16.51
27.5	1.376 70	1.116 6	278.9	249.8	16.58
27.6	1.376 87	1.117 1	280.1	250.8	16.65
27.7	1.377 05	1.117 6	281.3	251.7	16.72
27.8	1.377 23	1.118 1	282.5	252.7	16.79
27.9	1.377 40	1.118 5	283.7	253.6	16.86
28.0	1.377 58	1.119 0	284.9	254.6	16.93
28.1	1.377 76	1.119 5	286.1	255.5	17.00
28.2	1.377 93	1.120 0	287.3	256.5	17.07
28.3	1.378 11	1.120 5	288.5	257.5	17.15
28.4	1.378 29	1.121 0	289.7	258.4	17.22
28.5	1.378 47	1.121 4	290.9	259.4	17.29

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量 /(g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
28.6	1.378 64	1.121 9	292.1	260.3	17.36
28.7	1.378 82	1.122 4	293.3	261.3	17.43
28.8	1.379 00	1.122 9	294.5	262.2	17.50
28.9	1.379 18	1.123 4	295.7	263.2	17.57
29.0	1.379 36	1.123 9	296.9	264.2	17.64
29.1	1.379 54	1.124 4	298.1	265.1	17.72
29.2	1.379 72	1.124 8	299.3	266.1	17.79
29.3	1.379 89	1.125 3	300.5	267.0	17.86
29.4	1.380 07	1.125 8	301.7	268.0	17.93
29.5	1.380 25	1.126 3	302.9	268.9	18.00
29.6	1.380 43	1.126 8	304.1	269.9	18.07
29.7	1.380 61	1.127 3	305.3	270.8	18.14
29.8	1.380 79	1.127 8	306.5	271.8	18.22
29.9	1.380 97	1.128 3	307.7	272.7	18.29
30.0	1.381 15	1.128 7	308.9	273.7	18.36
30.1	1.381 33	1.129 2	310.1	274.6	18.43
30.2	1.381 51	1.129 7	311.3	275.6	18.50
30.3	1.381 69	1.130 2	312.6	276.5	18.58
30.4	1.381 87	1.130 7	313.8	277.5	18.65
30.5	1.382 05	1.131 2	315.0	278.5	18.72
30.6	1.382 23	1.131 7	316.2	279.4	18.79
30.7	1.382 41	1.132 2	317.4	280.4	18.86
30.8	1.382 59	1.132 7	318.6	281.3	18.93
30.9	1.382 77	1.133 2	319.8	282.3	19.01
31.0	1.382 96	1.133 7	321.1	283.2	19.08
31.1	1.383 14	1.134 2	322.3	284.2	19.15
31.2	1.383 32	1.134 6	323.5	285.1	19.23
31.3	1.383 50	1.135 1	324.7	286.1	19.30
31.4	1.383 68	1.135 6	325.9	287.0	19.37
31.5	1.383 86	1.136 1	327.2	288.0	19.45
31.6	1.384 05	1.136 6	328.4	288.9	19.52

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
31.7	1.384 23	1.137 1	329.6	289.9	19.59
31.8	1.384 41	1.137 6	330.8	290.8	19.66
31.9	1.384 59	1.138 1	332.1	291.8	19.74
32.0	1.384 78	1.138 6	333.3	292.7	19.81
32.1	1.384 96	1.139 1	334.5	293.7	19.88
32.2	1.385 14	1.139 6	335.7	294.6	19.95
32.3	1.385 32	1.140 1	337.0	295.6	20.03
32.4	1.385 51	1.140 6	338.2	296.5	20.10
32.5	1.385 69	1.141 1	339.4	297.5	20.17
32.6	1.385 87	1.141 6	340.7	298.4	20.25
32.7	1.386 06	1.142 1	341.9	299.4	20.32
32.8	1.386 24	1.142 6	343.1	300.3	20.39
32.9	1.386 43	1.143 1	344.4	301.3	20.47
33.0	1.386 61	1.143 6	345.6	302.2	20.54
33.1	1.386 79	1.144 1	346.8	303.2	20.61
33.2	1.386 98	1.144 6	348.1	304.1	20.69
33.3	1.387 16	1.145 1	349.3	305.0	20.76
33.4	1.387 35	1.145 6	350.6	306.0	20.84
33.5	1.387 53	1.146 1	351.8	306.9	20.91
33.6	1.387 72	1.146 6	353.0	307.9	20.98
33.7	1.387 90	1.147 1	354.3	308.8	21.06
33.8	1.388 09	1.147 6	355.5	309.8	21.13
33.9	1.388 27	1.148 1	356.8	310.7	21.20
34.0	1.388 46	1.148 6	358.0	311.7	21.28
34.1	1.388 64	1.149 1	359.2	312.6	21.35
34.2	1.388 83	1.149 6	360.5	313.6	21.42
34.3	1.389 02	1.150 1	361.7	314.5	21.50
34.4	1.389 20	1.150 7	363.0	315.5	21.57
34.5	1.389 39	1.151 2	364.2	316.4	21.64
34.6	1.389 58	1.151 7	365.5	317.4	21.72
34.7	1.389 76	1.152 2	366.7	318.3	21.79

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
34.8	1.389 95	1.152 7	368.0	319.2	21.87
34.9	1.390 14	1.153 2	369.2	320.2	21.94
35.0	1.390 32	1.153 7	370.5	321.1	22.02
35.1	1.390 51	1.154 2	371.8	322.1	22.10
35.2	1.390 70	1.154 7	373.0	323.0	22.17
35.3	1.390 88	1.155 2	374.3	324.0	22.24
35.4	1.391 07	1.155 7	375.5	324.9	22.32
35.5	1.391 26	1.156 3	376.8	325.9	22.39
35.6	1.391 45	1.156 8	378.0	326.8	22.46
35.7	1.391 64	1.157 3	379.3	327.8	22.54
35.8	1.391 82	1.157 8	380.6	328.7	22.62
35.9	1.392 01	1.158 3	381.8	329.6	22.69
36.0	1.392 20	1.158 8	383.1	330.6	22.77
36.1	1.392 39	1.159 3	384.4	331.5	22.84
36.2	1.392 58	1.159 8	385.6	332.5	22.92
36.3	1.392 77	1.160 3	386.9	333.4	22.99
36.4	1.392 96	1.160 9	388.1	334.4	23.06
36.5	1.393 14	1.161 4	389.4	335.3	23.14
36.6	1.393 33	1.161 9	390.7	336.3	23.22
36.7	1.393 52	1.162 4	392.0	337.2	23.30
36.8	1.393 71	1.162 9	393.2	338.1	23.37
36.9	1.393 90	1.163 4	394.5	339.1	23.45
37.0	1.394 09	1.164 0	395.8	340.0	23.52
37.1	1.394 28	1.164 5	397.0	341.0	23.59
37.2	1.394 47	1.165 0	398.3	341.9	23.67
37.3	1.394 66	1.165 5	399.6	342.9	23.75
37.4	1.394 85	1.166 0	400.9	343.8	23.83
37.5	1.395 04	1.166 5	402.1	344.7	23.90
37.6	1.395 24	1.167 1	403.4	345.7	23.97
37.7	1.395 43	1.167 6	404.7	346.6	24.05
37.8	1.395 62	1.168 1	406.0	347.6	24.13

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
37.9	1.395 81	1.168 6	407.3	348.5	24.21
38.0	1.396 00	1.169 1	408.6	349.4	24.28
38.1	1.396 19	1.169 7	409.8	350.4	24.35
38.2	1.396 38	1.170 2	411.1	351.3	24.43
38.3	1.396 58	1.170 7	412.4	352.3	24.51
38.4	1.396 77	1.171 2	413.7	353.2	24.59
38.5	1.396 96	1.171 7	415.0	354.2	24.66
38.6	1.397 15	1.172 3	416.3	355.1	24.74
38.7	1.397 34	1.172 8	417.6	356.0	24.82
38.8	1.397 54	1.173 3	418.8	357.0	24.89
38.9	1.397 73	1.173 8	420.1	357.9	24.97
39.0	1.397 92	1.174 4	421.4	358.9	25.04
39.1	1.398 12	1.174 9	422.7	359.8	25.12
39.2	1.398 31	1.175 4	424.0	360.7	25.20
39.3	1.398 50	1.175 9	425.3	361.7	25.28
39.4	1.398 70	1.176 5	426.6	362.6	25.35
39.5	1.398 89	1.177 0	427.9	363.6	25.43
39.6	1.399 08	1.177 5	429.2	364.5	25.51
39.7	1.399 28	1.178 0	430.5	365.4	25.58
39.8	1.399 47	1.178 6	431.8	366.4	25.66
39.9	1.399 67	1.179 1	433.1	367.3	25.74
40.0	1.399 86	1.179 6	434.4	368.3	25.82
40.1	1.400 06	1.180 1	435.7	369.2	25.89
40.2	1.400 25	1.180 7	437.0	370.1	25.97
40.3	1.400 44	1.181 2	438.3	371.1	26.05
40.4	1.400 64	1.181 7	439.6	372.0	26.13
40.5	1.400 83	1.182 3	440.9	373.0	26.20
40.6	1.401 03	1.182 8	442.2	373.9	26.28
40.7	1.401 23	1.183 3	443.6	374.8	26.36
40.8	1.401 42	1.183 9	444.9	375.8	26.44
40.9	1.401 62	1.184 4	446.2	376.7	26.52

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
41.0	1.401 81	1.184 9	447.5	377.7	26.59
41.1	1.402 01	1.185 5	448.8	378.6	26.67
41.2	1.402 21	1.186 0	450.1	379.5	26.75
41.3	1.402 40	1.186 5	451.4	380.5	26.83
41.4	1.402 60	1.187 1	452.8	381.4	26.91
41.5	1.402 80	1.187 6	454.1	382.3	26.99
41.6	1.402 99	1.188 1	455.4	383.3	27.06
41.7	1.403 19	1.188 7	456.7	384.2	27.14
41.8	1.403 39	1.189 2	458.0	385.2	27.22
41.9	1.403 58	1.189 7	459.4	386.1	27.30
42.0	1.403 78	1.190 3	460.7	387.0	27.38
42.1	1.403 98	1.190 8	462.0	388.0	27.46
42.2	1.404 18	1.191 3	463.3	388.9	27.53
42.3	1.404 37	1.191 9	464.7	389.9	27.62
42.4	1.404 57	1.192 4	466.0	390.8	27.69
42.5	1.404 77	1.192 9	467.3	391.7	27.77
42.6	1.404 97	1.193 5	468.6	392.7	27.85
42.7	1.405 17	1.194 0	470.0	393.6	27.93
42.8	1.405 37	1.194 6	471.3	394.5	28.01
42.9	1.405 57	1.195 1	472.6	395.5	28.09
43.0	1.405 76	1.195 6	474.0	396.4	28.17
43.1	1.405 96	1.196 2	475.3	397.3	28.25
43.2	1.406 16	1.196 7	476.6	398.3	28.32
43.3	1.406 36	1.197 3	478.0	399.2	28.41
43.4	1.406 56	1.197 8	479.3	400.2	28.48
43.5	1.406 76	1.198 3	480.7	401.1	28.57
43.6	1.406 96	1.198 9	482.0	402.0	28.65
43.7	1.407 16	1.199 4	483.3	403.0	28.72
43.8	1.407 36	1.200 0	484.7	403.9	28.81
43.9	1.407 56	1.200 5	486.0	404.8	28.88
44.0	1.407 76	1.201 1	487.4	405.8	28.97

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
44.1	1.407 96	1.201 6	488.7	406.7	29.04
44.2	1.408 17	1.202 2	490.1	407.6	29.13
44.3	1.408 37	1.202 7	491.4	408.6	29.20
44.4	1.408 57	1.203 2	492.8	409.5	29.29
44.5	1.408 77	1.203 8	494.1	410.4	29.36
44.6	1.408 97	1.204 3	495.5	411.4	29.45
44.7	1.409 17	1.204 9	496.8	412.3	29.52
44.8	1.409 37	1.205 4	498.2	413.3	29.61
44.9	1.409 58	1.206 0	499.5	414.2	29.69
45.0	1.409 78	1.206 5	500.9	415.1	29.77
45.1	1.409 98	1.207 1	502.2	416.1	29.85
45.2	1.410 18	1.207 6	503.6	417.0	29.93
45.3	1.410 39	1.208 2	504.9	417.9	30.01
45.4	1.410 59	1.208 7	506.3	418.9	30.09
45.5	1.410 79	1.209 3	507.7	419.8	30.17
45.6	1.410 99	1.209 8	509.0	420.7	30.25
45.7	1.411 20	1.210 4	510.4	421.7	30.33
45.8	1.411 40	1.210 9	511.7	422.6	30.41
45.9	1.411 60	1.211 5	513.1	423.5	30.49
46.0	1.411 81	1.212 0	514.5	424.5	30.58
46.1	1.412 01	1.212 6	515.8	425.4	30.65
46.2	1.412 22	1.213 1	517.2	426.3	30.74
46.3	1.412 42	1.213 7	518.6	427.3	30.82
46.4	1.412 62	1.214 2	519.9	428.2	30.90
46.5	1.412 83	1.214 8	521.3	429.1	30.98
46.6	1.413 03	1.215 4	522.7	430.1	31.06
46.7	1.413 24	1.215 9	524.1	431.0	31.15
46.8	1.413 44	1.216 5	525.4	431.9	31.22
46.9	1.413 65	1.217 0	526.8	432.9	31.31
47.0	1.413 85	1.217 6	528.2	433.8	31.39
47.1	1.414 06	1.218 1	529.6	434.7	31.47

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
47.2	1.414 27	1.218 7	530.9	435.7	31.55
47.3	1.414 47	1.219 2	532.3	436.6	31.63
47.4	1.414 68	1.219 8	533.7	437.5	31.72
47.5	1.414 88	1.220 4	535.1	438.5	31.80
47.6	1.415 09	1.220 9	536.5	439.4	31.88
47.7	1.415 30	1.221 5	537.9	440.3	31.97
47.8	1.415 50	1.222 0	539.2	441.3	32.04
47.9	1.415 71	1.222 6	540.6	442.2	32.13
48.0	1.415 92	1.223 2	542.0	443.1	32.21
48.1	1.416 12	1.223 7	543.4	444.1	32.29
48.2	1.416 33	1.224 3	544.8	445.0	32.38
48.3	1.416 54	1.224 8	546.2	445.9	32.46
48.4	1.416 74	1.225 4	547.6	446.8	32.54
48.5	1.416 95	1.226 0	549.0	447.8	32.63
48.6	1.417 16	1.226 5	550.4	448.7	32.71
48.7	1.417 37	1.227 1	551.8	449.6	32.79
48.8	1.417 58	1.227 7	553.2	450.6	32.88
48.9	1.417 79	1.228 2	554.6	451.5	32.96
49.0	1.417 99	1.228 8	556.0	452.4	33.04
49.1	1.418 20	1.229 4	557.4	453.4	33.13
49.2	1.418 41	1.229 9	558.8	454.3	33.21
49.3	1.418 62	1.230 5	560.2	455.2	33.29
49.4	1.418 83	1.231 1	561.6	456.2	33.38
49.5	1.419 04	1.231 6	563.0	457.1	33.46
49.6	1.419 25	1.232 2	564.4	458.0	33.54
49.7	1.419 46	1.232 8	565.8	458.9	33.63
49.8	1.419 67	1.233 3	567.2	459.9	33.71
49.9	1.419 88	1.233 9	568.6	460.8	33.79
50.0	1.420 09	1.234 5	570.0	461.7	33.88
50.1	1.420 30	1.235 0	571.4	462.7	33.96
50.2	1.420 51	1.235 6	572.8	463.6	34.04

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m) %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
50.3	1.420 72	1.236 2	574.2	464.5	34.12
50.4	1.420 93	1.236 8	575.6	465.4	34.21
50.5	1.421 14	1.237 3	577.1	466.4	34.30
50.6	1.421 35	1.237 9	578.5	467.3	34.38
50.7	1.421 56	1.238 5	579.9	468.2	34.46
50.8	1.421 77	1.239 0	581.3	469.2	34.55
50.9	1.421 99	1.239 6	582.7	470.1	34.63
51.0	1.422 20	1.240 2	584.2	471.0	34.72
51.1	1.422 41	1.240 8	585.6	471.9	34.80
51.2	1.422 62	1.241 3	587.0	472.9	34.89
51.3	1.422 83	1.241 9	588.4	473.8	34.97
51.4	1.423 05	1.242 5	589.9	474.7	35.06
51.5	1.423 26	1.243 1	591.3	475.7	35.14
51.6	1.423 47	1.243 6	592.7	476.6	35.22
51.7	1.423 68	1.244 2	594.1	477.5	35.31
51.8	1.423 90	1.244 8	595.6	478.4	35.40
51.9	1.424 11	1.245 4	597.0	479.4	35.48
52.0	1.424 32	1.246 0	598.4	480.3	35.56
52.1	1.424 54	1.246 5	599.9	481.2	35.65
52.2	1.424 75	1.247 1	601.3	482.1	35.74
52.3	1.424 96	1.247 7	602.7	483.1	35.82
52.4	1.425 18	1.248 3	604.2	484.0	35.91
52.5	1.425 39	1.248 8	605.6	484.9	35.99
52.6	1.425 61	1.249 4	607.0	485.8	36.07
52.7	1.425 82	1.250 0	608.5	486.8	36.16
52.8	1.426 04	1.250 6	609.9	487.7	36.25
52.9	1.426 25	1.251 2	611.4	488.6	36.34
53.0	1.426 47	1.251 8	612.8	489.5	36.42
53.1	1.426 68	1.252 3	614.2	490.5	36.50
53.2	1.426 90	1.252 9	615.7	491.4	36.59
53.3	1.427 11	1.253 5	617.1	492.3	36.67

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
53.4	1.427 33	1.254 1	618.6	493.2	36.76
53.5	1.427 54	1.254 7	620.0	494.2	36.85
53.6	1.427 76	1.255 3	621.5	495.1	36.94
53.7	1.427 98	1.255 8	622.9	496.0	37.02
53.8	1.428 19	1.256 4	624.4	496.9	37.11
53.9	1.428 41	1.257 0	625.8	497.9	37.19
54.0	1.428 63	1.257 6	627.3	498.8	37.28
54.1	1.428 84	1.258 2	628.7	499.7	37.36
54.2	1.429 06	1.258 8	630.2	500.6	37.45
54.3	1.429 28	1.259 4	631.7	501.6	37.54
54.4	1.429 49	1.260 0	633.1	502.5	37.63
54.5	1.429 71	1.260 6	634.6	503.4	37.71
54.6	1.429 93	1.261 1	636.0	504.3	37.80
54.7	1.430 15	1.261 7	637.5	505.2	37.89
54.8	1.430 36	1.262 3	639.0	506.2	37.98
54.9	1.430 58	1.262 9	640.4	507.1	38.06
55.0	1.430 80	1.263 5	641.9	508.0	38.15
55.1	1.431 02	1.264 1	643.4	508.9	38.24
55.2	1.431 24	1.264 7	644.8	509.9	38.32
55.3	1.431 46	1.265 3	646.3	510.8	38.41
55.4	1.431 68	1.265 9	647.8	511.7	38.50
55.5	1.431 89	1.266 5	649.2	512.6	38.58
55.6	1.432 11	1.267 1	650.7	513.5	38.67
55.7	1.432 33	1.267 7	652.2	514.5	38.76
55.8	1.432 55	1.268 3	653.7	515.4	38.85
55.9	1.432 77	1.268 9	655.1	516.3	38.93
56.0	1.432 99	1.269 5	656.6	517.2	39.02
56.1	1.433 21	1.270 1	658.1	518.1	39.11
56.2	1.433 43	1.270 6	659.6	519.1	39.20
56.3	1.433 65	1.271 2	661.0	520.0	39.28
56.4	1.433 87	1.271 8	662.5	520.9	39.37

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
56.5	1.434 10	1.272 4	664.0	521.8	39.46
56.6	1.434 32	1.273 0	665.5	522.7	39.55
56.7	1.434 54	1.273 6	667.0	523.7	39.64
56.8	1.434 76	1.274 2	668.5	524.6	39.73
56.9	1.434 98	1.274 8	669.9	525.5	39.81
57.0	1.435 20	1.275 4	671.4	526.4	39.90
57.1	1.435 42	1.276 0	672.9	527.3	39.99
57.2	1.435 65	1.276 6	674.4	528.3	40.08
57.3	1.435 87	1.277 3	675.9	529.2	40.17
57.4	1.436 09	1.277 9	677.4	530.1	40.26
57.5	1.436 31	1.278 5	678.9	531.0	40.35
57.6	1.436 53	1.279 1	680.4	531.9	40.44
57.7	1.436 76	1.279 7	681.9	532.8	40.53
57.8	1.436 98	1.280 3	683.4	533.8	40.61
57.9	1.437 20	1.280 9	684.9	534.7	40.70
58.0	1.437 43	1.281 5	686.4	535.6	40.79
58.1	1.437 65	1.282 1	687.9	536.5	40.88
58.2	1.437 87	1.282 7	689.4	537.4	40.97
58.3	1.438 10	1.283 3	690.9	538.3	41.06
58.4	1.438 32	1.283 9	692.4	539.3	41.15
58.5	1.438 55	1.284 5	693.9	540.2	41.24
58.6	1.438 77	1.285 1	695.4	541.1	41.33
58.7	1.438 99	1.285 7	696.9	542.0	41.42
58.8	1.439 22	1.286 3	698.4	542.9	41.51
58.9	1.439 44	1.287 0	699.9	543.8	41.60
59.0	1.439 67	1.287 6	701.4	544.8	41.68
59.1	1.439 89	1.288 2	702.9	545.7	41.77
59.2	1.440 12	1.288 8	704.4	546.6	41.86
59.3	1.440 35	1.289 4	706.0	547.5	41.96
59.4	1.440 57	1.290 0	707.5	548.4	42.05
59.5	1.440 80	1.290 6	709.0	549.3	42.14

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
59.6	1.441 02	1.291 2	710.5	550.2	42.23
59.7	1.441 25	1.291 9	712.0	551.1	42.31
59.8	1.441 48	1.292 5	713.5	552.1	42.40
59.9	1.441 70	1.293 1	715.1	553.0	42.50
60.0	1.441 93	1.293 7	716.6	553.9	42.59
60.1	1.442 16	1.294 3	718.1	554.8	42.68
60.2	1.442 38	1.294 9	719.6	555.7	42.77
60.3	1.442 61	1.295 6	721.1	556.6	42.85
60.4	1.442 84	1.296 2	722.7	557.5	42.95
60.5	1.443 06	1.296 8	724.2	558.4	43.04
60.6	1.443 29	1.297 4	725.7	559.4	43.13
60.7	1.443 52	1.298 0	727.3	560.3	43.22
60.8	1.443 75	1.298 6	728.8	561.2	43.31
60.9	1.443 98	1.299 3	730.3	562.1	43.40
61.0	1.444 20	1.299 9	731.8	563.0	43.49
61.1	1.444 43	1.300 5	733.4	563.9	43.59
61.2	1.444 66	1.301 1	734.9	564.8	43.68
61.3	1.444 89	1.301 7	736.4	565.7	43.76
61.4	1.445 12	1.302 4	738.0	566.6	43.86
61.5	1.445 35	1.303 0	739.5	567.6	43.95
61.6	1.445 58	1.303 6	741.1	568.5	44.04
61.7	1.445 81	1.304 2	742.6	569.4	44.13
61.8	1.446 04	1.304 9	744.1	570.3	44.22
61.9	1.446 27	1.305 5	745.7	571.2	44.32
62.0	1.446 50	1.306 1	747.2	572.1	44.41
62.1	1.446 73	1.306 7	748.8	573.0	44.50
62.2	1.446 96	1.307 4	750.3	573.9	44.59
62.3	1.447 19	1.308 0	751.9	574.8	44.69
62.4	1.447 42	1.308 6	753.4	575.7	44.77
62.5	1.447 65	1.309 2	755.0	576.6	44.87
62.6	1.447 88	1.309 9	756.5	577.5	44.96

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
62.7	1.448 11	1.310 5	758.1	578.5	45.05
62.8	1.448 34	1.311 1	759.6	579.4	45.14
62.9	1.448 58	1.311 8	761.2	580.3	45.24
63.0	1.448 81	1.312 4	762.7	581.2	45.33
63.1	1.449 04	1.313 0	764.3	582.1	45.42
63.2	1.449 27	1.313 7	765.8	583.0	45.51
63.3	1.449 50	1.314 3	767.4	583.9	45.61
63.4	1.449 74	1.314 9	769.0	584.8	45.70
63.5	1.449 97	1.315 5	770.5	585.7	45.79
63.6	1.450 20	1.316 2	772.1	586.6	45.89
63.7	1.450 43	1.316 8	773.6	587.5	45.98
63.8	1.450 67	1.317 4	775.2	588.4	46.07
63.9	1.450 90	1.318 1	776.8	589.3	46.17
64.0	1.451 13	1.318 7	778.3	590.2	46.25
64.1	1.451 37	1.319 3	779.9	591.1	46.35
64.2	1.451 60	1.320 0	781.5	592.0	46.44
64.3	1.451 84	1.320 6	783.0	592.9	46.53
64.4	1.452 07	1.321 3	784.6	593.8	46.63
64.5	1.452 30	1.321 9	786.2	594.7	46.72
64.6	1.452 54	1.322 5	787.8	595.6	46.82
64.7	1.452 77	1.323 2	789.3	596.5	46.91
64.8	1.453 01	1.323 8	790.9	597.4	47.00
64.9	1.453 24	1.324 4	792.5	598.3	47.10
65.0	1.453 48	1.325 1	794.1	599.3	47.19
65.1	1.453 71	1.325 7	795.6	600.2	47.28
65.2	1.453 95	1.326 4	797.2	601.1	47.38
65.3	1.454 18	1.327 0	798.8	602.0	47.47
65.4	1.454 42	1.327 6	800.4	602.9	47.57
65.5	1.454 66	1.328 3	802.0	603.8	47.66
65.6	1.454 89	1.328 9	803.6	604.7	47.76
65.7	1.455 13	1.329 6	805.1	605.6	47.85

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
65.8	1.455 37	1.330 2	806.7	606.5	47.94
65.9	1.455 60	1.330 9	808.3	607.4	48.04
66.0	1.455 84	1.331 5	809.9	608.3	48.13
66.1	1.456 08	1.332 2	811.5	609.2	48.23
66.2	1.456 31	1.332 8	813.1	610.1	48.32
66.3	1.456 55	1.333 4	814.7	611.0	48.42
66.4	1.456 79	1.334 1	816.3	611.9	48.51
66.5	1.457 03	1.334 7	817.9	612.8	48.61
66.6	1.457 26	1.335 4	819.5	613.7	48.70
66.7	1.457 50	1.336 0	821.1	614.6	48.80
66.8	1.457 74	1.336 7	822.7	615.5	48.89
66.9	1.457 98	1.337 3	824.3	616.3	48.99
67.0	1.458 22	1.338 0	825.9	617.2	49.08
67.1	1.458 46	1.338 6	827.5	618.1	49.18
67.2	1.458 70	1.339 3	829.1	619.0	49.27
67.3	1.458 93	1.339 9	830.7	619.9	49.37
67.4	1.459 17	1.340 6	832.3	620.8	49.46
67.5	1.459 41	1.341 2	833.9	621.7	49.56
67.6	1.459 65	1.341 9	835.5	622.6	49.65
67.7	1.459 89	1.342 5	837.1	623.5	49.75
67.8	1.460 13	1.343 2	838.7	624.4	49.84
67.9	1.460 37	1.343 8	840.3	625.3	49.94
68.0	1.460 61	1.344 5	841.9	626.2	50.03
68.1	1.460 85	1.345 1	843.6	627.1	50.14
68.2	1.461 09	1.345 8	845.2	628.0	50.23
68.3	1.461 34	1.346 4	846.8	628.9	50.33
68.4	1.461 58	1.347 1	848.4	629.8	50.42
68.5	1.461 82	1.347 8	850.0	630.7	50.52
68.6	1.462 06	1.348 4	851.6	631.6	50.61
68.7	1.462 30	1.349 1	853.3	632.5	50.71
68.8	1.462 54	1.349 7	854.9	633.4	50.81

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
68.9	1.462 78	1.350 4	856.5	634.3	50.90
69.0	1.463 03	1.351 0	858.1	635.2	51.00
69.1	1.463 27	1.351 7	859.8	636.1	51.10
69.2	1.463 51	1.352 4	861.4	636.9	51.19
69.3	1.463 75	1.353 0	863.0	637.8	51.29
69.4	1.464 00	1.353 7	864.7	638.7	51.39
69.5	1.464 24	1.354 3	866.3	639.6	51.48
69.6	1.464 48	1.355 0	867.9	640.5	51.58
69.7	1.464 73	1.355 7	869.5	641.4	51.67
69.8	1.464 97	1.356 3	871.2	642.3	51.78
69.9	1.465 21	1.357 0	872.8	643.2	51.87
70.0	1.465 46	1.357 6	874.5	644.1	51.97
70.1	1.465 70	1.358 3	876.1	645.0	52.07
70.2	1.465 94	1.359 0	877.7	645.9	52.16
70.3	1.466 19	1.359 6	879.4	646.8	52.26
70.4	1.466 43	1.360 3	881.0	647.7	52.36
70.5	1.466 68	1.361 0	882.7	648.5	52.46
70.6	1.466 92	1.361 6	884.3	649.4	52.55
70.7	1.467 17	1.362 3	886.0	650.3	52.65
70.8	1.467 41	1.363 0	887.6	651.2	52.75
70.9	1.467 66	1.363 6	889.3	652.1	52.85
71.0	1.467 90	1.364 3	890.9	653.0	52.95
71.1	1.468 15	1.365 0	892.6	653.9	53.05
71.2	1.468 40	1.365 6	894.2	654.8	53.14
71.3	1.468 64	1.366 3	895.9	655.7	53.24
71.4	1.468 89	1.367 0	897.5	656.6	53.34
71.5	1.469 13	1.367 6	899.2	657.5	53.44
71.6	1.469 38	1.368 3	900.8	658.3	53.53
71.7	1.469 63	1.369 0	902.5	659.2	53.64
71.8	1.469 87	1.369 6	904.1	660.1	53.73
71.9	1.470 12	1.370 3	905.8	661.0	53.83

表 2(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
72.0	1.470 37	1.371 0	907.5	661.9	53.93
72.1	1.470 62	1.371 7	909.1	662.8	54.03
72.2	1.470 86	1.372 3	910.8	663.7	54.13
72.3	1.471 11	1.373 0	912.5	664.6	54.23
72.4	1.471 36	1.373 7	914.1	665.5	54.32
72.5	1.471 61	1.374 3	915.8	666.3	54.43
72.6	1.471 86	1.375 0	917.5	667.2	54.53
72.7	1.472 10	1.375 7	919.1	668.1	54.62
72.8	1.472 35	1.376 4	920.8	669.0	54.72
72.9	1.472 60	1.377 0	922.5	669.9	54.82
73.0	1.472 85	1.377 7	924.2	670.8	54.93
73.1	1.473 10	1.378 4	925.8	671.7	55.02
73.2	1.473 35	1.379 1	927.5	672.6	55.12
73.3	1.473 60	1.379 7	929.2	673.5	55.22
73.4	1.473 85	1.380 4	930.9	674.3	55.32
73.5	1.474 10	1.381 1	932.6	675.2	55.42
73.6	1.474 35	1.381 8	934.3	676.1	55.53
73.7	1.474 60	1.382 5	935.9	677.0	55.62
73.8	1.474 85	1.383 1	937.6	677.9	55.72
73.9	1.475 10	1.383 8	939.3	678.8	55.82
74.0	1.475 35	1.384 5	941.0	679.7	55.92
74.1	1.475 60	1.385 2	942.7	680.6	56.02
74.2	1.475 85	1.385 9	944.4	681.4	56.13
74.3	1.476 10	1.386 5	946.1	682.3	56.23
74.4	1.476 35	1.387 2	947.8	683.2	56.33
74.5	1.476 61	1.387 9	949.5	684.1	56.43
74.6	1.476 86	1.388 6	951.2	685.0	56.53
74.7	1.477 11	1.389 3	952.9	685.9	56.63
74.8	1.477 36	1.389 9	954.6	686.8	56.73
74.9	1.477 61	1.390 6	956.3	687.7	56.83

表 3 用折光仪测定的精馏浓缩葡萄汁的糖含量(单位 g/L 和 g/kg)与 20℃ 时蔗糖含量(m/m)含量、折光率的对应关系

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃ 时折光指数	20℃ 时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃ 时吸光值/ %vol
50.0	1.420 08	1.234 2	627.6	508.5	37.30
50.1	1.420 29	1.234 8	629.3	509.6	37.40
50.2	1.420 50	1.235 5	630.9	510.6	37.49
50.3	1.420 71	1.236 2	632.4	511.6	37.58
50.4	1.420 92	1.236 7	634.1	512.7	37.68
50.5	1.421 13	1.237 4	635.7	513.7	37.78
50.6	1.421 35	1.238 1	637.3	514.7	37.87
50.7	1.421 56	1.238 6	638.7	515.7	37.96
50.8	1.421 77	1.239 1	640.4	516.8	38.06
50.9	1.421 98	1.239 6	641.9	517.8	38.15
51.0	1.422 19	1.240 1	643.4	518.8	38.24
51.1	1.422 40	1.240 6	645.0	519.9	38.33
51.2	1.422 61	1.241 1	646.5	520.9	38.42
51.3	1.422 82	1.241 6	648.1	522.0	38.52
51.4	1.423 04	1.242 1	649.6	523.0	38.61
51.5	1.423 25	1.242 7	651.2	524.0	38.70
51.6	1.423 47	1.243 4	652.9	525.1	38.80
51.7	1.423 68	1.244 1	654.5	526.1	38.90
51.8	1.423 89	1.244 7	656.1	527.1	38.99
51.9	1.424 10	1.245 4	657.8	528.2	39.09
52.0	1.424 32	1.246 1	659.4	529.2	39.19
52.1	1.424 53	1.246 6	661.0	530.2	39.28
52.2	1.424 75	1.247 0	662.5	531.3	39.37
52.3	1.424 96	1.247 5	664.1	532.3	39.47
52.4	1.425 17	1.248 0	665.6	533.3	39.56
52.5	1.425 38	1.248 6	667.2	534.4	39.65
52.6	1.425 60	1.249 3	668.9	535.4	39.75
52.7	1.425 81	1.250 0	670.5	536.4	39.85
52.8	1.426 03	1.250 6	672.2	537.5	39.95
52.9	1.426 24	1.251 3	673.8	538.5	40.04

表 3(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
53.0	1.426 45	1.252 0	675.5	539.5	40.14
53.1	1.426 67	1.252 5	677.1	540.6	40.24
53.2	1.426 89	1.253 0	678.5	541.5	40.32
53.3	1.427 11	1.253 5	680.2	542.6	40.42
53.4	1.427 33	1.254 0	681.8	543.7	40.52
53.5	1.427 54	1.254 6	683.4	544.7	40.61
53.6	1.427 76	1.255 3	685.1	545.8	40.72
53.7	1.427 97	1.256 0	686.7	546.7	40.81
53.8	1.428 19	1.256 6	688.4	547.8	40.91
53.9	1.428 40	1.257 3	690.1	548.9	41.01
54.0	1.428 61	1.258 0	691.7	549.8	41.11
54.1	1.428 84	1.258 5	693.3	550.9	41.20
54.2	1.429 06	1.259 0	694.9	551.9	41.30
54.3	1.429 27	1.259 5	696.5	553.0	41.39
54.4	1.429 49	1.260 0	698.1	554.0	41.49
54.5	1.429 71	1.260 6	699.7	555.1	41.58
54.6	1.429 93	1.261 3	701.4	556.1	41.68
54.7	1.430 14	1.262 0	703.1	557.1	41.79
54.8	1.430 36	1.262 5	704.7	558.2	41.88
54.9	1.430 58	1.263 0	706.2	559.1	41.97
55.0	1.430 79	1.263 5	707.8	560.2	42.06
55.1	1.431 02	1.263 9	709.4	561.3	42.16
55.2	1.431 24	1.264 5	711.0	562.3	42.25
55.3	1.431 46	1.265 2	712.7	563.3	42.36
55.4	1.431 68	1.265 9	714.4	564.3	42.46
55.5	1.431 89	1.266 5	716.1	565.4	42.56
55.6	1.432 11	1.267 2	717.8	566.4	42.66
55.7	1.432 33	1.267 9	719.5	567.5	42.76
55.8	1.432 55	1.268 5	721.1	568.5	42.85
55.9	1.432 77	1.269 2	722.8	569.5	42.96
56.0	1.432 98	1.269 9	724.5	570.5	43.06

表 3(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
56.1	1.433 21	1.270 3	726.1	571.6	43.15
56.2	1.433 43	1.270 8	727.7	572.6	43.25
56.3	1.433 65	1.271 3	729.3	573.7	43.34
56.4	1.433 87	1.271 8	730.9	574.7	43.44
56.5	1.434 09	1.272 4	732.6	575.8	43.54
56.6	1.434 31	1.273 1	734.3	576.8	43.64
56.7	1.434 54	1.273 8	736.0	577.8	43.74
56.8	1.434 76	1.274 4	737.6	578.8	43.84
56.9	1.434 98	1.275 1	739.4	579.9	43.94
57.0	1.435 19	1.275 8	741.1	580.9	44.04
57.1	1.435 42	1.276 3	742.8	582.0	44.14
57.2	1.435 64	1.276 8	744.4	583.0	44.24
57.3	1.435 86	1.277 3	745.9	584.0	44.33
57.4	1.436 09	1.277 8	747.6	585.1	44.43
57.5	1.436 31	1.278 4	749.3	586.1	44.53
57.6	1.436 53	1.279 1	751.0	587.1	44.63
57.7	1.436 75	1.279 8	752.7	588.1	44.73
57.8	1.436 98	1.280 4	754.4	589.2	44.83
57.9	1.437 20	1.281 0	756.1	590.2	44.94
58.0	1.437 41	1.281 8	757.8	591.2	45.04
58.1	1.437 64	1.282 2	759.5	592.3	45.14
58.2	1.437 84	1.282 7	761.1	593.4	45.23
58.3	1.439 09	1.283 2	762.6	594.3	45.32
58.4	1.438 32	1.283 7	764.3	595.4	45.42
58.5	1.438 54	1.284 3	766.0	596.4	45.52
58.6	1.438 77	1.285 0	767.8	597.5	45.63
58.7	1.438 99	1.285 7	769.5	598.5	45.73
58.8	1.439 22	1.286 3	771.1	599.5	45.83
58.9	1.439 44	1.286 9	772.9	600.6	45.93
59.0	1.439 66	1.287 6	774.6	601.6	46.03
59.1	1.439 88	1.288 2	776.3	602.6	46.14

表 3(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
59.2	1.440 11	1.288 9	778.1	603.7	46.24
59.3	1.440 34	1.289 6	779.8	604.7	46.34
59.4	1.440 57	1.290 2	781.6	605.8	46.45
59.5	1.440 79	1.290 9	783.3	606.8	46.55
59.6	1.441 02	1.291 6	785.2	607.9	46.66
59.7	1.441 24	1.292 1	786.8	608.9	46.76
59.8	1.441 47	1.292 6	788.4	609.9	46.85
59.9	1.441 69	1.293 1	790.0	610.9	46.95
60.0	1.441 92	1.293 6	791.7	612.0	47.05
60.1	1.442 15	1.294 2	793.3	613.0	47.15
60.2	1.442 38	1.294 9	795.2	614.1	47.26
60.3	1.442 60	1.295 6	796.9	615.1	47.36
60.4	1.442 83	1.296 2	798.6	616.1	47.46
60.5	1.443 05	1.296 9	800.5	617.2	47.57
60.6	1.443 28	1.297 6	802.2	618.2	47.67
60.7	1.443 51	1.298 1	803.9	619.3	47.78
60.8	1.443 74	1.298 6	805.5	620.3	47.87
60.9	1.443 97	1.299 1	807.1	621.3	47.97
61.0	1.444 19	1.299 6	808.7	622.3	48.06
61.1	1.444 42	1.300 2	810.5	623.4	48.17
61.2	1.444 65	1.300 9	812.3	624.4	48.27
61.3	1.444 88	1.301 6	814.2	625.5	48.39
61.4	1.445 11	1.302 2	815.8	626.5	48.48
61.5	1.445 34	1.302 9	817.7	627.6	48.60
61.6	1.445 57	1.303 6	819.4	628.6	48.70
61.7	1.445 80	1.304 2	821.3	629.7	48.81
61.8	1.446 03	1.304 9	823.0	630.7	48.91
61.9	1.446 26	1.305 6	824.8	631.7	49.02
62.0	1.446 48	1.306 2	826.6	632.8	49.12
62.1	1.446 72	1.306 8	828.3	633.8	49.23
62.2	1.446 95	1.307 5	830.0	634.8	49.33

表 3(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
62.3	1.447 18	1.308 0	831.8	635.9	49.43
62.4	1.447 41	1.308 5	833.4	636.9	49.53
62.5	1.447 64	1.309 0	835.1	638.0	49.63
62.6	1.447 87	1.309 5	836.8	639.0	49.73
62.7	1.448 10	1.310 1	838.5	640.0	49.83
62.8	1.448 33	1.310 8	840.2	641.0	49.93
62.9	1.448 56	1.311 5	842.1	642.1	50.05
63.0	1.448 79	1.312 1	843.8	643.1	50.15
63.1	1.449 02	1.312 8	845.7	644.2	50.26
63.2	1.449 26	1.313 5	847.5	645.2	50.37
63.3	1.449 49	1.314 1	849.3	646.3	50.47
63.4	1.449 72	1.314 8	851.1	647.3	50.58
63.5	1.449 95	1.315 5	853.0	648.4	50.69
63.6	1.450 19	1.316 1	854.7	649.4	50.79
63.7	1.450 42	1.316 8	856.5	650.4	50.90
63.8	1.450 65	1.317 5	858.4	651.5	51.01
63.9	1.450 88	1.318 0	860.0	652.5	51.11
64.0	1.451 12	1.318 5	861.6	653.5	51.20
64.1	1.451 35	1.319 0	863.4	654.6	51.31
64.2	1.451 58	1.319 5	865.1	655.6	51.41
64.3	1.451 81	1.320 1	866.9	656.7	51.52
64.4	1.452 05	1.320 8	868.7	657.7	51.63
64.5	1.452 28	1.321 5	870.6	658.8	51.74
64.6	1.452 52	1.322 1	872.3	659.8	51.84
64.7	1.452 75	1.322 8	874.1	660.8	51.95
64.8	1.452 99	1.323 5	876.0	661.9	52.06
64.9	1.453 22	1.324 1	877.8	662.9	52.17
65.0	1.453 47	1.324 8	879.7	664.0	52.28
65.1	1.453 69	1.325 5	881.5	665.0	52.39
65.2	1.453 93	1.326 1	883.2	666.0	52.49
65.3	1.454 16	1.326 8	885.0	667.0	52.60

表 3(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
65.4	1.454 40	1.327 5	886.9	668.1	52.71
65.5	1.454 63	1.328 1	888.8	669.2	52.82
65.6	1.454 87	1.328 8	890.6	670.2	52.93
65.7	1.455 10	1.329 5	892.4	671.2	53.04
65.8	1.455 34	1.330 1	894.2	672.3	53.14
65.9	1.455 57	1.330 8	896.0	673.3	53.25
66.0	1.455 83	1.331 5	898.0	674.4	53.37
66.1	1.456 05	1.332 0	899.6	675.4	53.46
66.2	1.456 29	1.332 5	901.3	676.4	53.56
66.3	1.456 52	1.333 0	903.1	677.5	53.67
66.4	1.456 76	1.333 5	904.8	678.5	53.77
66.5	1.457 00	1.334 1	906.7	679.6	53.89
66.6	1.457 24	1.334 8	908.5	680.6	53.99
66.7	1.457 47	1.335 5	910.4	681.7	54.11
66.8	1.457 71	1.336 1	912.2	682.7	54.21
66.9	1.457 95	1.336 7	913.9	683.7	54.31
67.0	1.458 20	1.337 4	915.9	684.8	54.43
67.1	1.458 43	1.338 0	917.6	685.8	54.53
67.2	1.458 67	1.338 7	919.6	686.9	54.65
67.3	1.458 90	1.339 5	921.4	687.9	54.76
67.4	1.459 14	1.340 0	923.1	688.9	54.86
67.5	1.459 38	1.340 7	925.1	690.0	54.98
67.6	1.459 62	1.341 5	927.0	691.0	55.09
67.7	1.459 86	1.342 0	928.8	692.1	55.20
67.8	1.460 10	1.342 7	930.6	693.1	55.31
67.9	1.460 34	1.343 4	932.6	694.2	55.42
68.0	1.460 60	1.344 0	934.4	695.2	55.53
68.1	1.460 82	1.344 7	936.2	696.2	55.64
68.2	1.461 06	1.345 4	938.0	697.2	55.75
68.3	1.461 30	1.346 0	939.9	698.3	55.86
68.4	1.461 54	1.346 6	941.8	699.4	55.97

表 3(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
68.5	1.461 78	1.347 3	943.7	700.4	56.08
68.6	1.462 02	1.347 9	945.4	701.4	56.19
68.7	1.462 26	1.348 6	947.4	702.5	56.30
68.8	1.462 51	1.349 3	949.2	703.5	56.41
68.9	1.462 75	1.349 9	951.1	704.6	56.52
69.0	1.463 01	1.350 6	953.0	705.6	56.64
69.1	1.463 23	1.351 3	954.8	706.6	56.74
69.2	1.463 47	1.351 9	956.7	707.7	56.86
69.3	1.463 71	1.352 6	958.6	708.7	56.97
69.4	1.463 96	1.353 3	960.6	709.8	57.09
69.5	1.464 20	1.353 9	962.4	710.8	57.20
69.6	1.464 44	1.354 6	964.3	711.9	57.31
69.7	1.464 68	1.355 3	966.2	712.9	57.42
69.8	1.464 93	1.356 0	968.2	714.0	57.54
69.9	1.465 17	1.356 6	970.0	715.0	57.65
70.0	1.465 44	1.357 3	971.8	716.0	57.75
70.1	1.465 65	1.357 9	973.8	717.1	57.87
70.2	1.465 90	1.358 6	975.6	718.1	57.98
70.3	1.466 14	1.359 3	977.6	719.2	58.10
70.4	1.466 39	1.359 9	979.4	720.2	58.21
70.5	1.466 63	1.360 6	981.3	721.2	58.32
70.6	1.466 88	1.361 3	983.3	722.3	58.44
70.7	1.467 12	1.361 9	985.2	723.4	58.55
70.8	1.467 37	1.362 6	987.1	724.4	58.66
70.9	1.467 61	1.363 3	988.9	725.4	58.77
71.0	1.467 89	1.363 9	990.9	726.5	58.89
71.1	1.468 10	1.364 6	992.8	727.5	59.00
71.2	1.468 35	1.365 3	994.8	728.6	59.12
71.3	1.468 59	1.365 9	996.6	729.6	59.23
71.4	1.468 84	1.366 5	998.5	730.7	59.34
71.5	1.469 08	1.367 2	1 000.4	731.7	59.45

表 3(续)

蔗糖含量 (m/m)/ %	20℃时折光指数	20℃时密度/ (g/mL)	含糖量/ (g/L)	含糖量/ (g/kg)	20℃时吸光值/ %vol
71.6	1.469 33	1.367 8	1 002.2	732.7	59.56
71.7	1.469 57	1.368 5	1 004.2	733.8	59.68
71.8	1.469 82	1.369 2	1 006.1	734.8	59.79
71.9	1.470 07	1.369 8	1 008.0	735.9	59.91
72.0	1.470 36	1.370 5	1 009.9	736.9	60.02
72.1	1.470 56	1.371 2	1 012.0	738.0	60.14
72.2	1.470 81	1.371 8	1 013.8	739.0	60.25
72.3	1.471 06	1.372 5	1 015.7	740.0	60.36
72.4	1.471 31	1.373 2	1 017.7	741.1	60.48
72.5	1.471 55	1.373 8	1 019.5	742.1	60.59
72.6	1.471 80	1.374 5	1 021.5	743.2	60.71
72.7	1.472 05	1.375 2	1 023.4	744.2	60.82
72.8	1.472 30	1.375 8	1 025.4	745.3	60.94
72.9	1.472 54	1.376 5	1 027.3	746.3	61.05
73.0	1.472 84	1.377 2	1 029.3	747.4	61.17
73.1	1.473 04	1.377 8	1 031.2	748.4	61.28
73.2	1.473 29	1.378 5	1 033.2	749.5	61.40
73.3	1.473 54	1.379 2	1 035.1	750.5	61.52
73.4	1.473 79	1.379 8	1 037.1	751.6	61.63
73.5	1.474 04	1.380 5	1 039.0	752.6	61.75
73.6	1.474 29	1.381 2	1 040.9	753.6	61.86
73.7	1.474 54	1.381 8	1 042.8	754.7	61.97
73.8	1.474 79	1.382 5	1 044.8	755.7	62.09
73.9	1.475 04	1.383 2	1 046.8	756.8	62.21
74.0	1.475 34	1.383 8	1 048.6	757.8	62.32
74.1	1.475 54	1.384 5	1 050.7	758.9	62.44
74.2	1.475 79	1.385 2	1 052.6	759.9	62.56
74.3	1.476 04	1.385 8	1 054.6	761.0	62.67
74.4	1.476 29	1.386 5	1 056.5	762.0	62.79
74.5	1.476 54	1.387 1	1 058.5	763.1	62.91
74.6	1.476 79	1.387 8	1 060.4	764.1	63.02
74.7	1.477 04	1.388 5	1 062.3	765.1	63.13
74.8	1.477 30	1.389 2	1 064.4	766.2	63.26
74.9	1.477 55	1.389 8	1 066.3	767.2	63.37
75.0	1.477 85	1.390 5	1 068.3	768.3	63.49



总干浸出物(重量法)

(决议 Oeno 377/2009 和 387/2009)

(决议 Oeno 465/2012 修订)

1 定义

总干浸出物(或总干物质)是在所有特定的物理条件下不挥发性物质的总量。

无糖浸出物是总干浸出物减去总糖量。还原性浸出物是总浸出物减去超过 1 g/L 的总糖、超过 1 g/L 硫酸钾、甘露醇,以及可能加入到葡萄酒中的其他化学物质。

残余浸出物是无糖浸出物减去以酒石酸计的不挥发性酸。

2 原理

葡萄酒样品经滤纸过滤后,将残留物在 2.666kPa~3.332kPa(20 mmHg~25 mmHg) 压力下,经 70℃ 流动的干燥空气干燥所得残渣的量。

3 方法

3.1 设备

3.1.1 干燥箱

铝制的圆柱形箱,内径 27 cm,高 6 cm,带有铝盖。干燥箱可加热,控制温度 70℃±1℃。

干燥箱带有一内径为 25 mm 的管与真空泵连接,真空泵的抽气量为 50 L/h。经浓硫酸预先干燥的空气在干燥箱内通过风扇进行循环,从而达到快速均匀加热的效果,空气流量控制在 30 L/h~40 L/h。箱内压力应保持在 3.332kPa(25 mmHg)。

只要满足 3.1.3 操作要求的所有干燥箱均可使用。

3.1.2 干燥皿

不锈钢材料(直径为 60 mm,高度为 25 mm),带有密封性良好的盖。

每个皿装入 4 g~4.5 g 滤纸,并将其剪成 22mm 长带凹槽的纸段。

滤纸先用 2 g/L 的盐酸浸泡 8 h,然后用蒸馏水反复清洗 5 次,在空气中干燥。

3.1.3 操作

a) 检查干燥皿的密封性。将装有干燥滤纸的干燥皿放在浓硫酸干燥器中冷却后,盖好皿盖,室温下放置,其质量变化不得超过 1 mg/h。

b) 检查干燥程度。浓度为 100 g/L 的纯蔗糖溶液经干燥后所得干浸出物的浓度应为 100 g/L±1 g/L。

c) 浓度为 10 g/L 纯乳酸溶液经干燥处理后至少可以得到 9.5 g/L 的干浸出物。

如果有必要,通过调整干燥时间、干燥空气的流量或真空度来满足上述条件。

注:10 g/L 的纯乳酸溶液制备方法:吸取 10 mL 纯乳酸,用水稀释至约 100 mL,将此溶液置于蒸发皿中,在沸水浴上加热 4 h。如果皿中的液体蒸发至 50 mL 以下,适当补充蒸馏水,将所得溶液加蒸馏水至 1 L,摇匀,取出 10 mL,用 0.1 mol/L 的碱液滴定,根据结果,调整乳酸溶液的浓度至 10 g/L。

3.2 步骤

3.2.1 干燥皿的质量

将装有滤纸的干燥皿放在干燥箱中干燥 1 h 后,关掉真空泵,迅速盖上干燥皿盖子,取出放在干燥器中冷却,然后称重,精确至 0.1 mg。此为干燥皿和盖的总质量 p_0 g。

3.2.2 试样的质量

在已称重过的干燥皿中加入 10 mL 葡萄汁或葡萄酒试样,使试样被滤纸完全吸收,将干燥皿放入干燥箱中干燥 2 h,然后按 3.2.1 所述操作,称量干燥皿质量为 p g。

注:如果葡萄汁和葡萄酒的糖分过多,应改用称量样品质量来代替量取体积。

3.3 计算

总干浸出物的质量按下式计算:

$$(p - p_0) \times 100$$

糖分过高的葡萄汁或葡萄酒的总干浸出物按下式计算:

$$(p - p_0) \times \frac{\rho_{20^\circ\text{C}}}{P} \times 100$$

其中: P ——样品的质量,单位为克(g);

$\rho_{20^\circ\text{C}}$ ——葡萄酒或葡萄汁的密度,单位为克每毫升(g/mL)。

3.4 结果表示

总干浸出物用 g/L 表示,结果保留一位小数。

注:计算总干浸出物要分别考虑葡萄糖和果糖(还原糖)及蔗糖的质量,如下所示:

$$\text{无糖浸出物} = \text{总干浸出物} - \text{还原糖(葡萄糖+果糖)} - \text{蔗糖}$$

如果实验时糖发生转化,使用下面的公式计算:

无糖浸出物 = 总干提取物 - 还原糖(葡萄糖 + 果糖) - [(转化之后的糖 - 转化之前的糖) × 0.95]
立体异构体转化成反立体异构化合物的过程。具体说,这个过程是基于蔗糖分裂为果糖和葡萄糖,将酸化的含糖溶液(100 mL 含糖溶液 + 5 mL 浓盐酸)在 50°C 或以上的水浴中至少保持 15 min(水浴保持在 60°C,直到溶液的温度达到 50°C),这一过程称为糖转化。

由于最初的溶液中有蔗糖的存在而呈右旋,转化后的溶液中有果糖的存在而呈左旋。

表 1 总干浸出物含量计算

密度的 前两位小数	第三位小数									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
浸出物/(g/L)										
1.00	0	2.6	5.1	7.7	10.3	12.9	15.4	18.0	20.6	23.2
1.01	25.8	28.4	31.0	33.6	36.2	38.8	41.3	43.9	46.5	49.1
1.02	51.7	54.3	56.9	59.5	62.1	64.7	67.3	69.9	72.5	75.1
1.03	77.7	80.3	82.9	85.5	88.1	90.7	93.3	95.9	98.5	101.11
1.04	103.7	106.3	109.0	111.6	114.2	116.8	119.4	122.0	124.6	127.2
1.05	129.8	132.4	135.0	137.6	140.3	142.9	145.5	148.1	150.7	153.3
1.06	155.9	158.6	161.2	163.8	166.4	169.0	171.6	174.3	176.9	179.5

表 1(续)

密度的 前两位小数	第三位小数									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
浸出物/(g/L)										
1.07	182.1	184.8	187.4	190.0	192.6	195.2	197.8	200.5	203.1	205.8
1.08	208.4	211.0	213.6	216.2	218.9	221.5	224.1	226.8	229.4	232.0
1.09	234.7	237.3	239.9	242.5	245.2	247.8	250.4	253.1	255.7	258.4
1.10	261.0	263.6	266.3	268.9	271.5	274.2	276.8	279.5	282.1	284.8
1.11	287.4	290.0	292.7	295.3	298.0	300.6	303.3	305.9	308.6	311.2
1.12	313.9	316.5	319.2	321.8	324.5	327.1	329.8	332.4	335.1	337.8
1.13	340.4	343.0	345.7	348.3	351.0	353.7	356.3	359.0	361.6	364.3
1.14	366.9	369.6	372.3	375.0	377.6	380.3	382.9	385.6	388.3	390.9
1.15	393.6	396.2	398.9	401.6	404.3	406.9	409.6	412.3	415.0	417.6
1.16	420.3	423.0	425.7	428.3	431.0	433.7	436.4	439.0	441.7	444.4
1.17	447.1	449.8	452.4	455.2	457.8	460.5	463.2	465.9	468.6	471.3
1.18	473.9	476.6	479.3	482.0	484.7	487.4	490.1	492.8	495.5	498.2
1.19	500.9	503.5	506.2	508.9	511.6	514.3	517.0	519.7	522.4	525.1
1.20	527.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表 2 内插表

第四位小数	浸出物/(g/L)	第四位小数	浸出物/(g/L)	第四位小数	浸出物/(g/L)
1	0.3	4	1.0	7	1.8
2	0.5	5	1.3	8	2.1
3	0.8	6	1.6	9	2.3

参 考 文 献

- [1] PIEN J., MEINRATH H., *Ann. Fals. Fraudes*, 1938, 30, 282.
- [2] DUPAIGNE P., *Bull. Inst. Jus Fruits*, 1947, No 4.
- [3] TAVERNIER J., JACQUIN P., *Ind. Agric. Alim.*, 1947, 64, 379.
- [4] JAULMES P., HAMELLE Mlle G., *Bull. O. I. V.*, 1954, 27, 276.
- [5] JAULMES P., HAMELLE Mlle G., *Mise au point de chimie analytique pure et appliquée. et d'analyse bromatologique*, 1956, par J. A. GAUTIER, Paris, 4e série.
- [6] JAULMES P., HAMELLE Mlle G., *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 1963, 243.
- [7] HAMELLE Mlle G., *Extrait sec des vins et des moûts de raisin*, 1965, Thèse Doct. Pharm. Montpellier.

总干浸出物(密度法)

(决议 Oeno 377/2009 和 387/2009)

(被 Oeno 465/2012 修订)

1 定义

总干浸出物(或总干物质)包是在特定的物理条件下所有不挥发性物质的总量。

无糖浸出物是总干浸出物减去总糖量。还原性浸出物是总干浸出物减去超过 1 g/L 的总糖,超过 1 g/L 硫酸钾、甘露醇,以及可能加入到葡萄酒中的其他的化学物质。

残余浸出物是无糖浸出物减去以酒石酸计的不挥发性酸。

2 原理

对于葡萄汁,可以将其比重值直接换算为总干浸出物;对于葡萄酒,则可用除去酒精后样品的比重换算为总干浸出物。

干浸出物可以用与无酒精葡萄酒或葡萄汁比重相同的蔗糖水溶液中蔗糖的质量来表示。

3 方法

3.1 步骤

测定葡萄酒或葡萄汁的比重。

就葡萄酒而言,可用下面的公式计算出“无酒精葡萄酒”的比重:

$$d_r = d_v - d_a + 1.000$$

其中, d_v 为 20°C 时葡萄酒的比重(用挥发酸修正*)。

d_a 为与葡萄酒酒精浓度相同的酒精水溶液 20°C 时的比重。用下式计算酒精度。

$$d_r = 1.00180^{**}(r_v - r_a) + 1.000$$

其中, r_v 为 20°C 时葡萄酒的密度(用挥发酸修正*)。

r_a 为与葡萄酒酒精度相同的酒精水溶液在 20°C 时的密度,由 20°C 密度和比重(A)章节中表 B.2 查得。

3.2 计算

根据表 1 由无酒精葡萄酒的密度查得总干浸出物(g/L)。

3.3 结果表示

总干浸出物结果以 g/L 表示,保留一位小数。

注:计算总干浸出物时要分别考虑葡萄糖和果糖(还原糖)及蔗糖的质量,如下所示:

* 注意:在计算前,葡萄酒的比重(或密度)需用挥发酸按下式修正:

$$d_v = d_{20^\circ\text{C}} - 0.0000086a \text{ 或 } \rho_v = \rho_{20} - 0.0000086a$$

其中: a 是挥发酸的含量,以毫当量/L 表示。

** 通常情况如果 r_v 低于 1.05,该系数 1.0018 近似于 1。

$$\text{无糖浸出物} = \text{总干浸出物} - \text{还原糖(葡萄糖+果糖)} - \text{蔗糖}$$

如果实验时糖发生转化,使用下面的公式计算:

$$\text{无糖浸出物} = \text{总干提取物} - \text{还原糖(葡萄糖+果糖)} - [(\text{转化之后的糖} - \text{转化之前的糖}) \times 0.95]$$

立体异构体转化成反立体异构化合物的过程。具体说,这个过程是指蔗糖分解为果糖和葡萄糖。将酸化的含糖溶液(100 mL 含糖溶液+5 mL 浓盐酸)在 50℃ 或以上的水浴中至少保持 15 min(水浴保持在 60℃,直到溶液的温度达到 50℃),这一过程称为糖转化。由于最初的溶液中有蔗糖的存在而呈右旋,转化后的溶液中有果糖的存在而呈左旋。

表 1 总干浸出物含量的计算

密度的前两位小数	密度的第三位小数									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	总浸出物/(g/L)									
1.00	0	2.6	5.1	7.7	10.3	12.9	15.4	18.0	20.6	23.2
1.01	25.8	28.4	31.0	33.6	36.2	38.8	41.3	43.9	46.5	49.1
1.02	51.7	54.3	56.9	59.5	62.1	64.7	67.3	69.9	72.5	75.1
1.03	77.7	80.3	82.9	85.5	88.1	90.7	93.3	95.9	98.5	101.1
1.04	103.7	106.3	109.0	111.6	114.2	116.8	119.4	122.0	124.6	127.2
1.05	129.8	132.4	135.0	137.6	140.3	142.9	145.5	148.1	150.7	153.3
1.06	155.9	158.6	161.2	163.8	166.4	169.0	171.6	174.3	176.9	179.5
1.07	182.1	184.8	187.4	190.0	192.6	195.2	197.8	200.5	203.1	205.8
1.08	208.4	211.0	213.6	216.2	218.9	221.5	224.1	226.8	229.4	232.0
1.09	234.7	237.3	239.9	242.5	245.2	247.8	250.4	253.1	255.7	258.4
1.10	261.0	263.6	266.3	268.9	271.5	274.2	276.8	279.5	282.1	284.8
1.11	287.4	290.0	292.7	295.3	298.0	300.6	303.3	305.9	308.6	311.2
1.12	313.9	316.5	319.2	321.8	324.5	327.1	329.8	332.4	335.1	337.8
1.13	340.4	343.0	345.7	348.3	351.0	353.7	356.3	359.0	361.6	364.3
1.14	366.9	369.6	372.3	375.0	377.6	380.3	382.9	385.6	388.3	390.9
1.15	393.6	396.2	398.9	401.6	404.3	406.9	409.6	412.3	415.0	417.6
1.16	420.3	423.0	425.7	428.3	431.0	433.7	436.4	439.0	441.7	444.4
1.17	447.1	449.8	452.4	455.2	457.8	460.5	463.2	465.9	468.6	471.3
1.18	473.9	476.6	479.3	482.0	484.7	487.4	490.1	492.8	495.5	498.2
1.19	500.9	503.5	506.2	508.9	511.6	514.3	517.0	519.7	522.4	525.1
1.20	527.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表 2 内插表

密度的第四 位小数	总浸出物/ (g/L)	密度的第四 位小数	总浸出物/ (g/L)	密度的第四 位小数	总浸出物/ (g/L)
1	0.3	4	1.0	7	1.8
2	0.5	5	1.3	8	2.1
3	0.8	6	1.6	9	2.3

参 考 文 献

- [1] TABLE DE PLATO, *d'après Allgemeine Verwaltungsvorschrift für die Untersuchung von Wein und ähnlichen alkoholischen Erzeugnissen sowie von Fruchtsäften*, vom April 1960, Bundesanzeiger Nr. 86 vom 5. Mai 1960. -Une table très voisine se trouve dans *Official and Tentative Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, Ed. A. O. A. C., Washington 1945, 815.



灰 分

1 定义

灰分是指葡萄酒经蒸发、灼烧后的残余物。灼烧过程中所有阳离子(铵根离子除外)都转化成碳酸盐或其他无水无机盐。

2 原理

葡萄酒在 500℃~550℃之间进行灼烧,直至其中全部的有机物完全灼烧(氧化)。

3 仪器

- 3.1 沸水浴:100℃。
- 3.2 分析天平(精确到 0.1 mg)。
- 3.3 加热板或红外蒸发器。
- 3.4 可控温的高温炉。
- 3.5 干燥器。
- 3.6 平底铂蒸发皿(直径 70 mm,高 25 mm)。

4 步骤

吸取 20mL 葡萄酒置于预先称重(原始重量为 p_0 g)的铂蒸发皿中,在沸水浴上蒸发;之后将盛有蒸发残留物的铂蒸发皿置于 200℃加热板上或红外蒸发器下碳化,直到不再产生烟为止;再将铂蒸发皿置于 525℃±25℃的马弗炉中,灼烧 15 min;从高温炉中取出蒸发皿,向皿中加入 5 mL 蒸馏水,置于沸水浴上或红外蒸发器下,重新加热、碳化,然后再移入 525℃的高温炉中灼烧 10 min。

如果碳化不完全,可将碳化残渣重新洗涤,蒸发掉水分之后,再次灼烧。对于含糖分较高的葡萄酒,最好在第一次灰化前,在蒸发残留物上滴加若干滴纯植物油,以防止产生过多的泡沫。取出铂蒸发皿,待其在干燥器中冷却后称重(p_1 g)。

样品(20 mL)的灰分重量的计算公式为 $p=(p_1-p_0)$ g。

5 结果表示

灰分的含量 P 以 g/L 表示,结果保留 2 位小数,则 $P=50 p$ 。

碱性灰分

1 定义

葡萄酒中碱性灰分是指除铵离子之外所有与有机酸结合的阳离子的总量。

2 原理

灰分溶解于定量(或过量)预热的标准酸溶液中,过量的酸用碱滴定,使用甲基橙作指示剂。

3 试剂和设备

3.1 0.05 mol/L 硫酸溶液。

3.2 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液。

3.3 0.1%的水溶液甲基橙。

3.4 水浴锅。

4 步骤

将 20 mL 葡萄酒的灰分置于铂金皿中,加入 10 mL 0.05 mol/L 的硫酸溶液,将铂金皿置于沸水浴上约 15 min,用玻璃棒搅动残渣以加速溶解。加入两滴甲基橙溶液,使用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液滴定过量的硫酸,直至指示剂颜色变为黄色。

5 结果表示

5.1 计算方法

碱性灰分用 mol/L 表示,结果保留一位小数,即

$$A=5\times(10-V)$$

其中:V 为滴定所消耗 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液的体积,单位为毫升(mL)。

5.2 另一种表示方法

碱性灰分用碳酸钾浓度(g/L)表示,结果保留两位小数,即

$$A=0.345\times(10-V)$$

参考文献

[1] JAULMES P., *Analyse des vins*, Librairie Poulain, Montpellier, éd., 1951, 107.



氧化-还原电位

(决议 Oeno 3/2000)

1 目的和适用范围

样品中的氧化还原状态通常用氧化还原电位(EH)来表示。在葡萄酒酿造行业,氧气和氧化-还原电位是影响葡萄收获预发酵过程、葡萄酒酿造、陈化、贮存过程的两个重要因素。

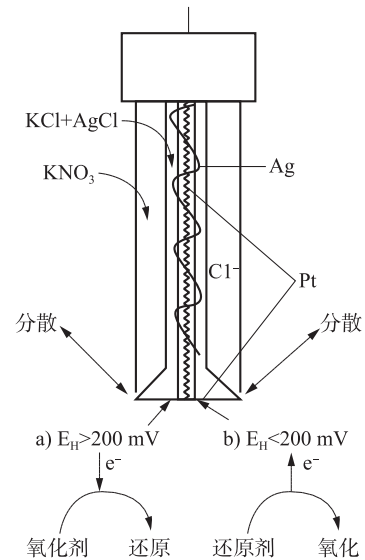
由于葡萄酒的氧化还原电位极易变化,因此开展不同实验室间的比对实验非常困难,该方法没有进行实验室间的比对实验,推荐方法类型为IV*,主要用于葡萄酒生产。

2 基本原理

氧化还原电位是指将一根惰性电极与一根标准氢电极相连接浸入待测样品中,两极之间产生的电位差。将标准氢电极的氧化还原电位定义为零,则样品的氧化还原电位即为其与标准氢电极间的电位差。氧化还原电位用溶液瞬时的物理化学状态变化的测量值表示。无论是葡萄酒还是其他溶液,氧化还原电位的测定都是采用复合电极,通常采用铂电极作为测量电极,银或甘汞电极作为参比电极。

3 仪器

虽然目前已有多种类型的电极,但本方法推荐一种适合葡萄酒 EH 测定的电极,该电极是连接参比电极的双层结构的复合电极。该电极由一个测量电极和一个双层参比电极组成,两者都与一个离子计相连。参比电极的内层装有 17.1% 硝酸钾(KNO₃)溶液、微量 AgCl、微量 Triton X-100、5% 氯化钾(KCl)溶液、77.9% 的去离子水组成的溶液;测量电极由小于 1% 的氯化银(AgCl)、29.8% 氯化钾(KCl)和 70% 的去离子水组成的溶液。



改良复合电极

4 电极的校正和净化

4.1 电极的校正

采用已知的具有固定氧化还原电位的溶液来校正电极。如 10 mmol/L 的铁氰化物和亚铁氰化物等摩尔电极校正液,它的配制方法如下:称取 0.329 g K₃Fe(CN)₆, 0.422g K₄Fe(CN)₆ 和 0.149 g KCl,用水溶解并定容至 1 000 mL。在 20℃ 时,该校正液的氧化还原电位为 406 mV ± 5 mV,但是其氧化还原电位随保存时间会发生变化,因此需在避光保存下,该校正液使用期不超过两周。

* 符合食品法典中的详细分类。

4.2 铂电极的清洗

将铂电极浸泡于 30% 过氧化氢(H_2O_2)中保持 1 h,取出后用水冲洗干净。在每次样品测量后,需要用水彻底清洗,通常情况下使用后每周需要清洗。

5 分析方法

5.1 加入电极内层溶液

电极内层溶液根据所测定样品不同而不同。

表 1 电极内层溶液成分表

所测溶液	内层溶液组成
1 干型葡萄酒	12%乙醇水溶液,5 g 酒石酸,用 NaOH 调节 pH 至 3.5,用水稀释至 1 000 mL
2 甜型葡萄酒	溶液 1 加 20 g/L 蔗糖
3 特甜葡萄酒	溶液 2 加 100 mg/L 的 SO_2 ($KHSO_3$)
4 白兰地	50%乙醇水溶液,用乙酸调节 pH 至 5,用水稀释至 1 000 mL

5.2 用待测溶液平衡电极

在进行任何氧化还原电位测量前,电极必须先用米凯利斯(Michaelis)溶液进行校正,如准备测定葡萄酒的氧化还原电位,则将校正后的电极浸入葡萄酒中稳定 15 min。如进行现场测量,将电极浸入葡萄酒 5 min 后读数;当在实验室测量时,氧化还原电位的稳定指数 $\Delta EH(mV)/T(min) \leq 0.2$ 时,方可记录测量值。

5.3 实际条件下的测量

现场的系统性测量应尽量避免试样氧化还原电位的变化。当测量贮酒池、大桶、罐等容器中葡萄酒的氧化还原电位时,应同时记下待测溶液的温度、pH 和溶解氧含量,因为这些指标将用于随后对样品氧化还原电位测定结果的说明。测量瓶装葡萄酒的氧化还原电位时,先将瓶装酒置于 20℃ 恒温室,在有通入恒定的氮气流条件下迅速打开酒瓶,并将整个电极浸入酒瓶中测量。

5.4 结果表示

葡萄酒的氧化还原电位由记录的实际电位与标准氢电极电位相比较得出,单位为毫伏(mV)。



颜色特征

1 定义

葡萄酒的‘颜色特征’是指它的色度和色调。色度取决于透射系数,随葡萄酒颜色强度的增大而减弱。色调则与最大吸收波长(它决定颜色特性)和纯度有关。

按惯例,为了方便,常用色度和色调描述红葡萄酒和桃红葡萄酒的颜色特性。

2 方法原理(适用于红葡萄酒和桃红葡萄酒)

采用分光光度法测量时,颜色特性通常用如下方式表示:

——色度是指光程为 1 cm 时,样品在 420 nm、520 nm 和 620 nm 波长处的吸光度(或光密度)之和。

——色调是样品在 420 nm 和 520 nm 波长处的吸光度之比。

3 方法

3.1 仪器

3.1.1 分光光度计(光程为 300 nm~700 nm)。

3.1.2 玻璃比色皿(成套配对),光程(b)分别为 0.1 cm, 0.2 cm, 0.5 cm, 1 cm 和 2 cm。

3.2 样品制备

若葡萄酒样品较浑浊,应通过离心进行澄清处理;新酿的葡萄酒或起泡葡萄酒需在减压条件下摇动以除去二氧化碳气体。

3.3 方法

选择合适光程(b)的玻璃比色皿,使得吸光度 A 的测量值在 0.3~0.7 之间。

以蒸馏水作为参比,使用相同光程(b)的比色皿,分别调节波长 420 nm、520 nm 和 620 nm 的吸光度零点。

选用合适光程(b)的比色皿,分别记录葡萄酒样品在三种波长下的吸光度。

3.4 计算

将测出的吸光度(A_{420} 、 A_{520} 和 A_{620})值分别除以光程 b (单位为 cm),计算出光程为 1 cm 时的各波长处的吸光度。

3.5 结果表述

色度 I 按下式计算:

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

结果保留 3 位小数。

色调 N 一般表示为:

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}}$$

结果保留 3 位小数。

表 1 吸光度与透光率(T%)的转化

位数	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	23 1000	22 977	22 955	21 933	21 912	20 891	20 871	19 851	19 932	19 813
1	18 794	18 776	17 759	17 741	16 724	16 708	16 692	15 676	15 661	15 646
2	14 631	14 617	14 603	14 589	13 575	13 562	13 549	12 537	12 525	12 513
3	11 501	11 490	11 479	11 468	10 457	9 447	9 436	10 427	10 417	9 407
4	9 398	9 389	9 380	8 371	8 363	8 355	8 347	8 339	7 331	8 324
5	7 316	7 309	7 302	7 295	6 288	7 282	6 275	6 269	6 263	6 257
6	6 251	5 245	6 240	5 234	5 229	5 224	5 219	5 214	5 209	5 204
7	4 199	5 195	4 190	4 186	4 182	4 178	4 174	4 170	4 166	4 162
8	3 158	4 155	3 151	4 148	4 144	3 141	3 138	3 135	3 132	3 129
9	3 126	3 123	3 120	2 117	3 115	2 112	3 110	2 107	3 105	2 102

使用方法：在左边第一列(0~9)中读取吸光度值的第一位小数，在上边第一行(0~9)中读取吸光度值的第二位小数。

两者交叉处的数值即为透光率。当吸光度小于 1 时先用该吸光度值除以 10，吸光度在 1 和 2 之间时先除以 100，吸光度在 2 和 3 之间先除以 1 000 然后再去表中找对应的透光率。

注：使用插值法，每格的右上方数字对应吸光度的第三位小数。

例如：

吸光度	0.47	1.47	2.47	3.47
T	33.9%	3.4%	0.3%	0%

透光率(T)可精确至 0.1%。

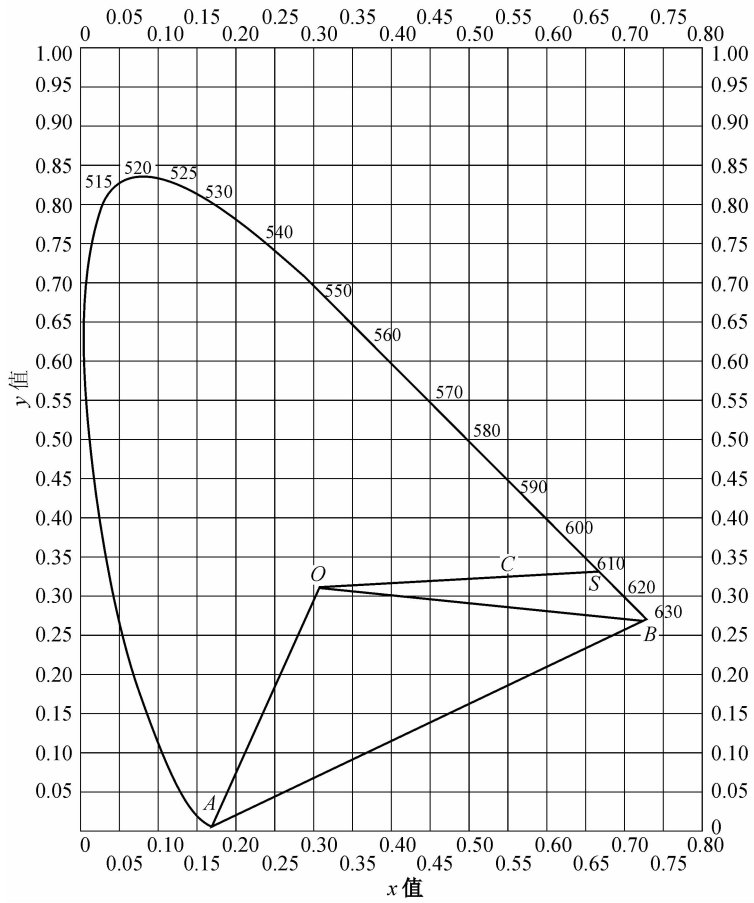


图1 表示光谱所有颜色位置的色度图

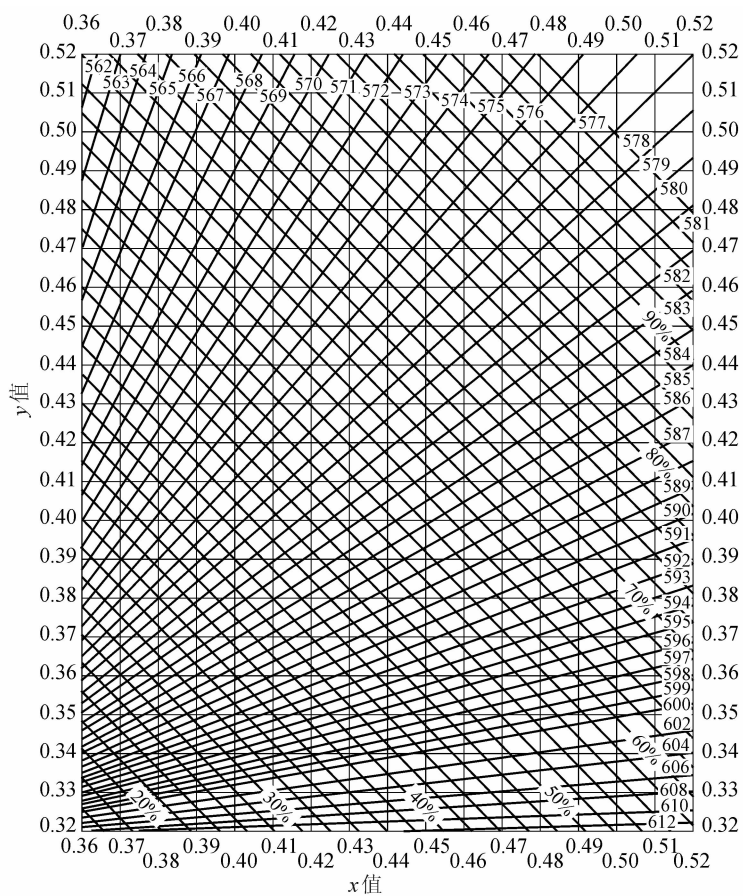


图 2 纯红葡萄酒与桃红葡萄酒色度图

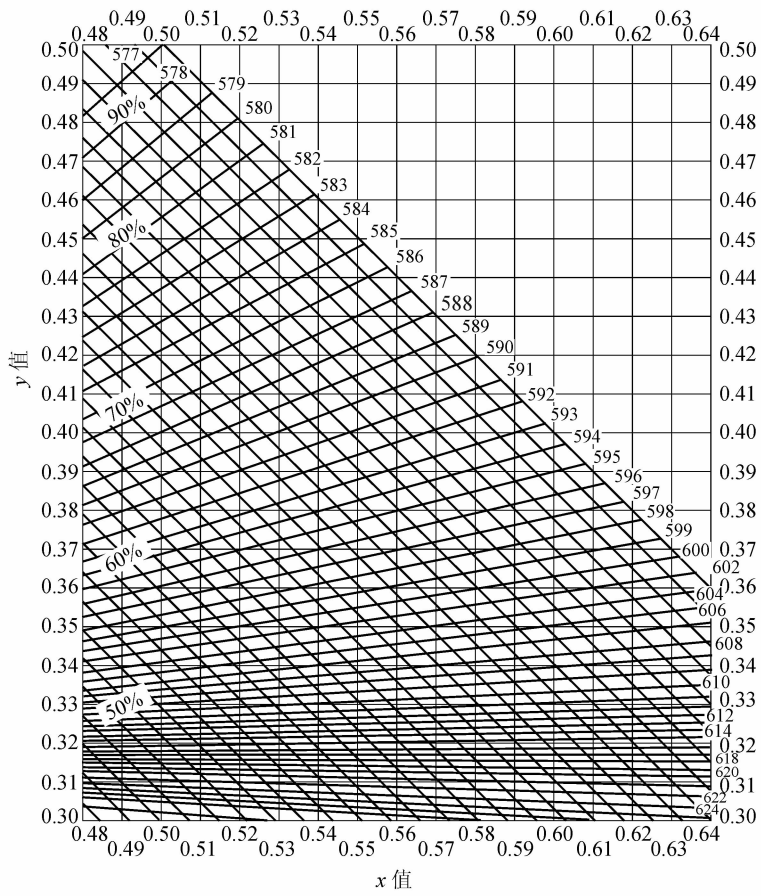


图3 纯红葡萄酒和桃红葡萄酒色度图

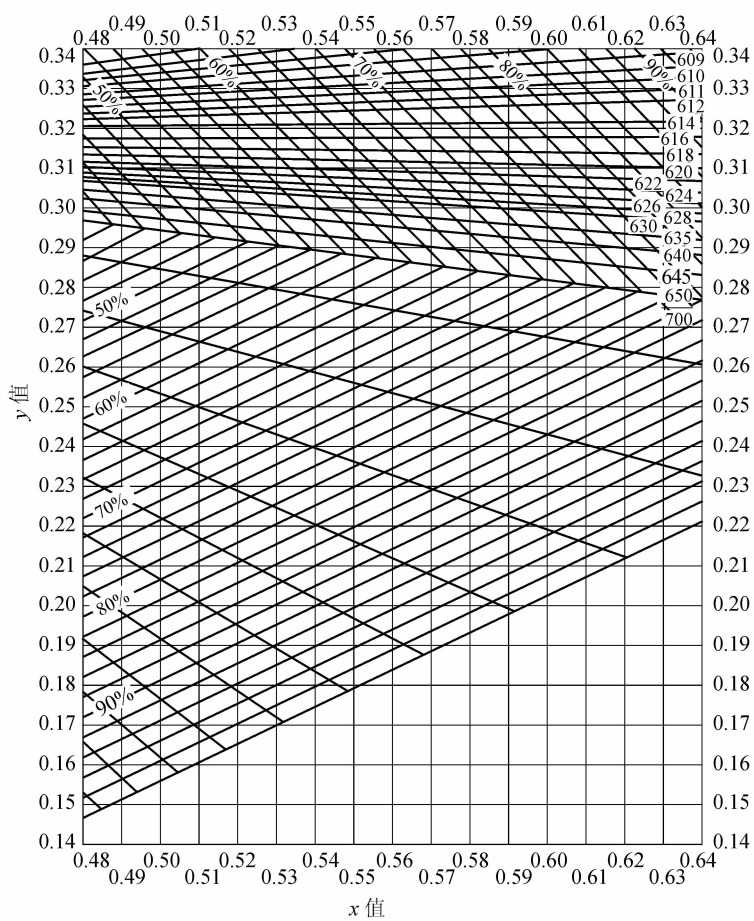


图 4 纯红葡萄酒和紫葡萄酒色度图

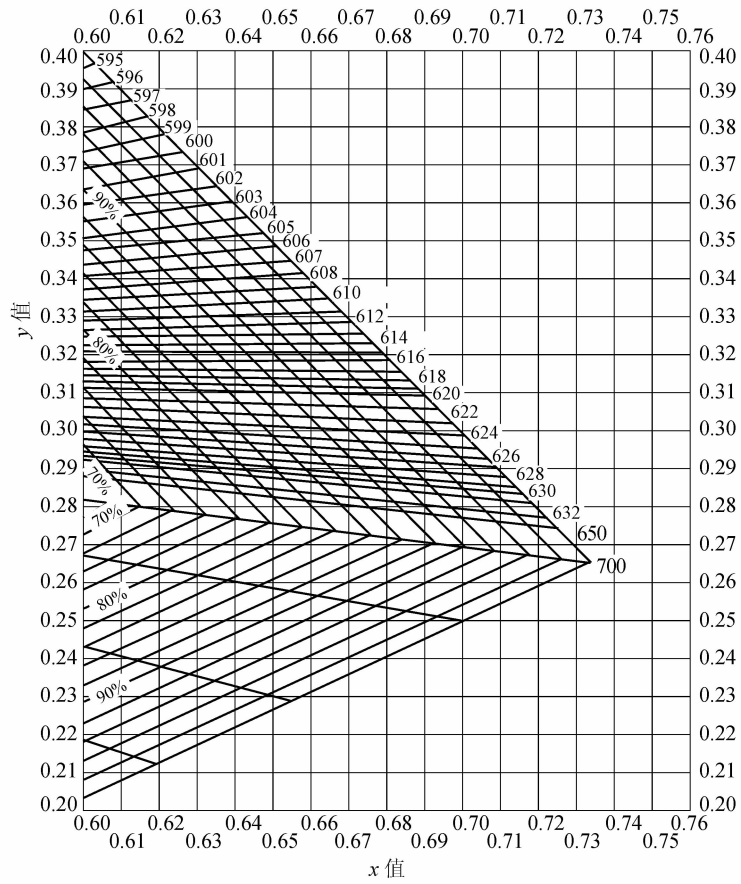


图5 纯红葡萄酒和紫红葡萄酒色度图

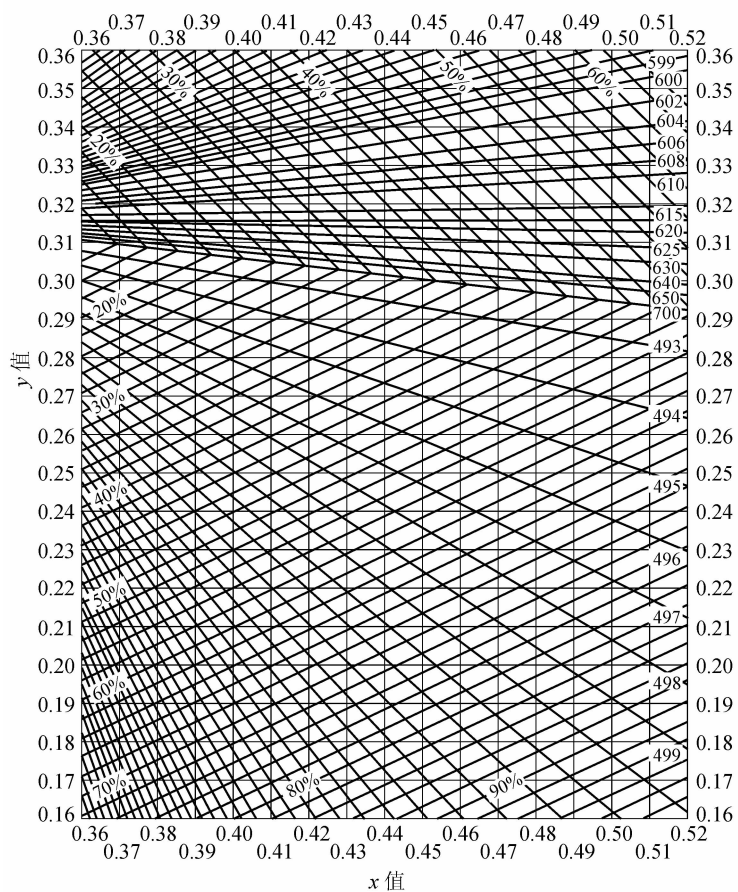


图6 桃红葡萄酒和紫红葡萄酒色度图

参考文献

- [1] BOUTARIC A. ,FERRE L. . ROY M. ,*Ann. Fals. Fraudes.* 1937,30,196.
- [2] SUDRAUD P. ,*Ann. Technol. Agric.* ,1958,no 2,203.
- [3] MARECA CORTES J. ,*Atti Acc. Vite Vino.* 1964,16.
- [4] GLORIES Y. ,*Conn. vigne et Vin.* 1984,18,no 3,195.



浊 度

(决议 Oeno 4/2000)

1 注意事项

葡萄酒浊度的测量结果与所使用设备有很大的关系。因此,只有采用同一测量原理的浊度仪测定结果之间才具有可比性,不同测量原理的浊度仪测定结果之间不能进行比较。

浊度的测定误差主要来源于所使用浊度仪的类型,包括:杂散光的影响、酒体颜色的影响(尤其是低混浊度的酒体)、电器元件老化而造成的电流不稳定、光源的类型、光检测器、测量杯的类型及尺寸。

本方法使用双光束光学补偿设计的浊度仪,该仪器可以补偿由于电流的不稳定、主电压的波动和部分葡萄酒颜色等造成的误差,并且校准后稳定性较好。

应当指出的是该方法不能对照分析在不同光源条件下采集的数据,因此不能开展实验室间的协同比对实验。

2 目的

采用光学方法测定葡萄酒浊度。

3 应用范围

当不具有测量重复性良好且能够有效补偿葡萄酒颜色的浊度测定仪器时,可以采用本方法,但是检测结果仅供参考。

该方法主要适用于生产中浊度测定。

本方法不能根据国际认可标准进行标准化认证,方法类型为IV。

4 基本原理

浊度是一种光学效应。

扩散系数是液体的本质特性,用于描述液体的光学效应。这种光学效应是由极微小的颗粒在液体分散介质中分布引起的。不同的分散介质其粒子的折射系数不同。

光束通过用一定体积容器装有的光学清洁的水溶液时,入射光波会产生扩散,通过对扩散光强度的测定能够得到水中的分子扩散情况。

在固定波长,入射光通量相同、测量角度相同、容器相同、指定温度等条件下,如果光束通过水的光散射值,大于通过待测液体的,则差异是由于悬浮在水中的固体、液体和气体粒子引起的,所以扩散光的测量值即为溶液的浊度。

5 定义

5.1 浊度

溶液中所含不溶性颗粒物使液体透明度降低。

5.2 浊度系数的测量单位

浊度的单位为 NTU。光线通过标准的福尔马胥悬浊液(制备见 6.1.2), 并从与入射光呈 90° 的方向检测有多少光被该溶液中的颗粒物所散射的值。

6 福尔马胥标准悬浊液的制备^{*}

6.1 试剂

所有试剂都必须是分析纯, 并保存在玻璃瓶中。

6.1.1 配制标准溶液的水的基本要求

0.1 μm 孔径滤膜在 100 mL 蒸馏水中浸泡 1 h(同微生物学要求), 取 250 mL 蒸馏水用浸泡过的滤膜过滤两次后, 用于标准溶液的配制。

6.1.2 福尔马胥($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_2$)溶液

福尔马胥溶液($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_2$)无商品化产品, 制备方法如下:

溶液 A: 称取 10.0 g 六亚甲基四胺 $[(\text{CH}_2)_6\text{N}_4]$ 用适量水溶解并定容至 100 mL。

溶液 B: 称取 1.0 g 硫酸胥($\text{N}_2\text{H}_6\text{SO}_4$)用适量水溶解并定容至 100 mL。

6.2 操作方法

将 5 mL 溶液 A 和 5 mL 溶液 B 混合, 在 $25^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ 放置 24 h 后, 用水稀释至 100 mL。该标准溶液的浊度为 400 NTU, 在室温避光条件下该标准溶液保存期为 4 周; 将该标准溶液用水稀释 400 倍, 得到浊度为 1 NTU 的标准溶液, 该标准溶液保存期仅为 1 周。

7 光学测量原理

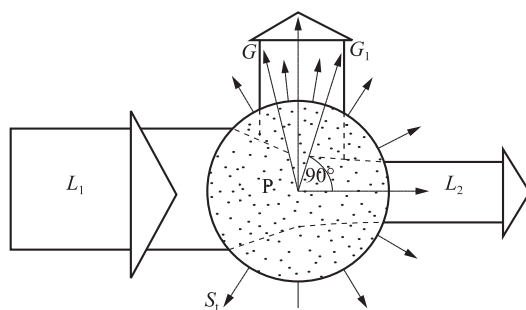


图 1

L_1 —入射光束; L_2 —通过样品后的光束; P—样品; S_1 —散射光

G/G_1 —用于测量的散射光的有限射线

散射光应该在入射光入射方向成 90° 处测量。

8 仪器

8.1 双光束和光学补偿浊度仪的光学原理

由光源(1)发出一束光到偏转反射镜(2), 它大约以 600 次/s 的速度交替地反射出测量

^{*} 硫酸胥有毒并可能会致癌, 所有操作需采取相应的防护措施。



光束(3)和参比光束(4)。

测量光束(3)通过被测液体(5)产生散射光,而参比光束(4)通过具有固定浊度的标准溶液(6)产生散射光。

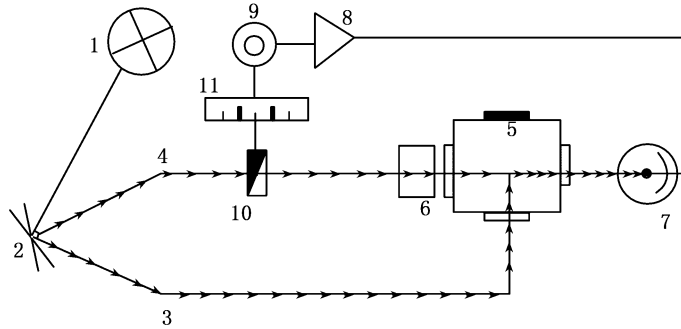


图 2

光线通过被测液体(5)被其中的微粒产生的散射光和通过标准溶液(6)产生的散射光被光电管(7)交替接收。测量光束(3)和参比光束(4)有同样的频率,但它们的发光强度不同。

光电管(7)将这些不同强度的光转变成电流并经放大器(8)放大,传到同步电机(9)。这个电机用一个动力测量光控装置(10)来改变控制光束的强度,直到两束光以同样的发光强度到达光电管。

通过测量光束和参比光束的平衡状态可以测量被测液体中固体颗粒的含量。

测量的绝对值取决于标准参比光束和光圈的位置。

8.2 特性

注:不管葡萄酒具有什么颜色,为了测量浊度,浊度仪必须配一个能在 620 nm 波长下进行测量的干涉滤光片,如果光源是红外光源,则不需要干涉滤光片。

8.2.1 入射光光谱的宽度应小于或等于 60 nm。

8.2.2 入射的平行光不能有分支,且收敛度不能超过 1.5° 。

8.2.3 入射光轴与散射光的角度为 $90^\circ \pm 2.5^\circ$ 。

8.2.4 浊度的测量范围为 0 NTU~0.1 NTU 时,由于杂射光而引起的仪器测量误差不能超过光的随机误差为 0.01 NTU。

9 步骤

9.1 检查仪器

在开展测量实验前,检查仪器的用电和机械要求,要与厂家推荐的条件一致。

9.2 检查测量比例尺

在进行任何一个或是一系列测量之前,需使用以前校准的仪器去检测测量比例尺。

9.3 清洗测量单元

在测量之前,小心仔细清理测量槽,在浊度系数测量前及测量过程中,采取一切必要的

措施,以避免灰尘进入仪器,特别是测量单元。

9.4 分析步骤

——测量温度应该在 15℃~25℃(要保证被测葡萄酒样品的温度以确保正确地进行比较)。在测量之前,认真将产品混合均匀,但是不能突然的摇动,以免产生乳化。

——使用少量的待测样品仔细润洗测量槽两次。

——小心地将待测样品倒进测量槽,避免产生气泡,待读数稳定 1 min 后,开始进行测量。

——记录测量的浊度系数。

10 结果表示

葡萄酒浊度用下列方法记录和表示,单位为 NTU:

——如果浊度小于 1 NTU,结果精确至 0.01 NTU。

——如果浊度在 1 NTU~10 NTU,结果精确至 0.1 NTU。

——如果浊度在 10 NTU~100 NTU,结果精确至 1 NTU。

11 测量报告

测试结果应包含以下内容:

- a) 本方法的参考文献;
- b) 测定结果按照第 10 节要求表示;
- c) 注明任何可能影响结果的细节和注意点。

参 考 文 献

- [1] AFNOR. Standard NF EN 27027(ISO 7027)–1994. Water Quality= Turbidity Analysis.
- [2] OIV. Compendium of International Methods for Spirits, Alcohols and the Aromatic Fractions in Beverages–1994. Turbidity–Nephelometric Analysis Method.
- [3] OIV SIGRIST PHOTOMETER SA, CH 6373 Ennetburgen. Excerpts from technical instructions for nephelometers.



福林-肖卡指数

1 定义

福林-肖卡指数是使用下述方法所得到的结果。

2 原理

葡萄酒中所有的酚类物质都能被福林-肖卡试剂氧化。该试剂是由磷钨酸($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$)和磷钼酸($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$)的混合物组成,酚类物质被氧化后会生成蓝色的氧化钨(W_8O_{23})和氧化钼(Mo_8O_{23})混合物,在 750 nm 波长处有最大吸收峰,其强度与酚类物质的总含量成比例。

3 设备

3.1 100 mL 容量瓶。

3.2 可在 750 nm 波长下测量用分光光度计。

4 试剂

4.1 福林-肖卡试剂。可以使用市售的商品化试剂。也可按照以下方法进行配制:称取 100 g 钨酸钠($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)和 25 g 钼酸钠($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)溶解在 700 mL 蒸馏水中,加入 50 mL 85%磷酸($\rho_{20^\circ\text{C}} = 1.71 \text{ g/mL}$)和 100 mL 浓盐酸($\rho_{20^\circ\text{C}} = 1.19 \text{ g/mL}$),沸腾状态下回流 10 h。加入 150 g 硫酸锂($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)和几滴溴水后,再沸腾 15 min。冷却,加入蒸馏水使其达到 1 L。

4.2 20%(m/V)无水碳酸钠溶液。

5 方法

5.1 红葡萄酒

在 100 mL 的容量瓶中(3.1),严格按照以下顺序依次加入:1 mL 稀释了 5 倍的葡萄酒; 50 mL 蒸馏水; 5 mL 福林-肖卡试剂; 20 mL 碳酸钠溶液(4.2)。

加蒸馏水定容至 100 mL,摇匀,等待 30 min 至反应完全。用 1 cm 的比色皿在 750 nm 波长处进行吸光度的测试,以蒸馏水作参比。

如果所测得的吸光度值小于 0.3,则需调整葡萄酒的稀释倍数重新进行测定。

5.2 白葡萄酒

取 1 mL 未经稀释的白葡萄酒按上述方法进行试验。

6 结果表示

6.1 计算

结果以指数形式表示:如果是稀释 5 倍的红葡萄酒(或相应的其他稀释倍数),用吸光度乘以 100 得到指数;如果是白葡萄酒,乘以 20 得到指数。

6.2 精确度

由同一检测人员同时进行或者间隔很短时间内检测得到的两个结果相差不超过 1。结果的准确度与所使用的容器(容量瓶和比色皿)的洁净度有关。



颜色特征〔CIE 1976($L^* a^* b^*$)色空间法〕

(决议 Oeno 1/2006)

1 简介

葡萄酒的颜色是我们可获得的一个最重要的视觉特征,它提供了大量与葡萄酒密切相关的信息。

色彩是一种视觉,是我们对从物体表面折射或者反射光的感知。色彩与光是紧密相关的,我们所看到的物体的颜色取决于光源的类型(发光或发光刺激)。光的可变性很强,所以在一定程度上色彩也是可变的。

葡萄酒能够吸收一部分光,同时也透射和反射一部分光,这部分被反射的光到达观察者眼睛,就感觉到葡萄酒的颜色。例如,非常暗的红葡萄酒是因为大部分的人射光被酒吸收而造成的。

1.1 范围

本分光光度法是根据国际照明委员会(CIE,1976)的规定采用三基色分量(X , Y 和 Z)的定义测量和计算葡萄酒及其他饮料的颜色特征,从而试图模仿真实观察员对颜色的感觉。

1.2 原理和定义

葡萄酒的颜色可以使用3个属性或视觉特质来描述:色调,色度和色差。

色调是颜色的根本特征,有红色,黄色,绿色和蓝色等。色度是葡萄酒本身或多或少发光而形成的视觉属性。色差或着色水平与颜色强度的高或低相关。我们采用这三个概念的组合来定义葡萄酒颜色特征的多样性。

葡萄酒的颜色度特征可以用分光光度法或色度坐标(图 A.1)来定义:透明度(L^*),红/绿颜色分量(a^*),和蓝/黄颜色分量(b^*);和其衍生特征:色度(C^*),色调(H^*)和颜色〔(a^* , b^*)或(C^* , H^*)〕。CIELab 色度空间系统是基于一个按次序的或连续的3轴直角坐标: L^* , a^* 和 b^* (图 A.2和图 A.3)。坐标 L^* 代表透明度($L^*=0$ 代表黑色, $L^*=100$ 代表无色), a^* 代表绿/红颜色分量($a^*>0$ 红色, $a^*<0$ 绿色), b^* 代表蓝/黄颜色分量($b^*>0$ 黄, $b^*<0$ 蓝)。

1.2.1 透明度

透明度用符号 L^* 表示,它是根据下列数学函数定义的:

$$L^* = 116(Y/Y_n)^{1/3} - 16$$

其与发光体的亮度视觉直接相关。

1.2.2 红/绿颜色分量

红/绿颜色分量用符号 a^* 表示,是根据下列数学函数定义:

$$a^* = 500[(X/X_n) - (Y/Y_n)]$$

1.2.3 黄/蓝颜色分量

黄/蓝颜色分量用符号 b^* 表示,是根据下列数学函数定义:

$$b^* = 200 - [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}]$$



1.2.4 色度

色度的符号是 C^* ,它是根据下列数学函数定义的:

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$$

1.2.5 色调

色调的符号是 H^* ,它的单位是 60 进制度($^\circ$)。它是根据下列数学函数定义的:

$$H^* = \text{tg}^{-1}(b^*/a^*)$$

1.2.6 两种葡萄酒的色调差异

其符号是 ΔH^* ,它是根据下列数学函数定义的:

$$\Delta H^* = \sqrt{(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2}$$

见附录 A。

1.2.7 两种葡萄酒之间的颜色差异

其符号是 ΔE^* ,它是根据下列数学函数定义的:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2}$$

1.3 试剂和材料

蒸馏水。

1.4 仪器和设备

1.4.1 分光光度计:满足以下条件:光源 D65,位于 10° 角观察,测量波长 300 nm~380 nm,透光率测量,分辨率大于等于 5 nm。

1.4.2 将分光光度计与计算机连接,用合适的软件控制,将有利于计算出色度坐标值(L^* 、 a^* 和 b^*)以及它们的衍生特征值(C^* 和 H^*)。

1.4.3 玻璃比色皿,配套成对,光程为 1 mm,2 mm 和 10 mm。

1.4.4 移液器:0.020 mL~2 mL。

1.5 取样和样品制备

取样时必须注意样品的均匀性和代表性。如果葡萄酒浑浊,必须离心使之澄清透明,新酿的葡萄酒和起泡葡萄酒需要在真空条件下摇动或者用超声波发生器去除二氧化碳。

1.6 步骤

——选用成套的比色皿进行分光光度法测量,同时确保不超出分光光度计测量的线性范围。建议在测定白葡萄酒和桃红葡萄酒时使用 10 mm 的比色皿,测定红葡萄酒时使用 1mm 的比色皿。

——量取制备好的样品,用装有蒸馏水的同样规格的比色皿作为参比,在 380 nm~780 nm 波长范围,采取间隔 5 nm 条件下测量样品的透射率,以建立基准线或白线,仪器光源选择 D65,观察角度为 10° 。

——对于用小于 10 mm 的比色皿读出的数据必须先要转化为 10 mm 的透射率,然后再计算 L^* 、 a^* 、 b^* 、 C^* 和 H^* 。

测量条件见表 1。



表 1

测量波长范围:380 nm ~780 nm
间隔:5 nm
比色皿:根据葡萄酒的颜色深度选择合适的光程:1 cm(白葡萄酒和桃红葡萄酒)和 0.1 cm(红葡萄酒)
光源:D65
观测器模式:10°

1.7 计算

分光光度计必须与计算机连接,使用合适的数学算法,才能有利于计算出色度坐标值(L^* 、 a^* 和 b^*)以及它们的相关衍生特征值(C^* 和 H^*)如果不能使用计算机时,可查阅附录 A 进行计算。

1.8 结果表示

葡萄酒的色度坐标值可根据表 2 中的推荐方法表示。

表 2

色度坐标	符号	间隔区间	小数位数
透明度	L^*	0~100 0 黑色 100 无色	1
红/绿颜色分量	a^*	>0 红色 <0 绿色	2
黄/蓝颜色分量	b^*	>0 黄色 <0 蓝色	2
色度	C^*		2
色调	H^*	0°~360°	2

1.9 计算举例

图 A.4 显示的是新酿红葡萄酒的色度坐标值和色度图。各值结果如下:

$$X=12.31;Y=60.03;Z=10.24$$

$$L^*=29.2$$

$$a^*=55.08$$

$$b^*=36.10$$

$$C^*=66.00$$

$$H^*=33.26^\circ$$

2 精密度

按照实验室间协同比对实验的要求,两个实验室对 8 个具有显著颜色特征的葡萄酒盲样进行测定,以验证该分析方法的有效性,测定结果如下表。

表 3 色度坐标 L^* (透明度, 0~100)

样品识别号	A	B	C	D	E	F	G	H
实验室测试年份	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
参加实验室数量	18	21	18	18	17	18	23	18
消除异常值后的实验室数量	14	16	16	16	14	17	21	16
平均值(\bar{X})	96.8	98.0	91.6	86.0	77.4	67.0	34.6	17.6
重复性标准偏差(S_r)	0.2	0.1	0.2	0.8	0.2	0.9	0.1	0.2
相对标准偏差 $RSD_r/\%$	0.2	0.1	0.3	1.0	0.3	1.3	0.2	1.2
重复性限 $r(2.8 \times S_r)$	0.5	0.2	0.7	2.2	0.7	2.5	0.2	0.6
再现性标准偏差(S_R)	0.6	0.1	1.2	2.0	0.8	4.1	1.0	1.0
相对标准偏差 $RSD_R/\%$	0.6	0.1	1.3	2.3	1.0	6.1	2.9	5.6
再现性限 $R(2.8 \times S_R)$	1.7	0.4	3.3	5.5	2.2	11.5	2.8	2.8

表 4 色度坐标 a^* (绿/红)

样品识别号	A	B	C	D	E	F	G	H
实验室测试年份	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
实验室数量	18	21	18	18	17	18	23	18
消除异常值后的实验室数量	15	15	14	15	13	16	23	17
平均值(\bar{X})	-0.26	-0.86	2.99	11.11	20.51	29.29	52.13	47.55
重复性标准偏差(S_r)	0.17	0.01	0.04	0.22	0.25	0.26	0.10	0.53
相对标准偏差 $RSD_r/\%$	66.3	1.4	1.3	2.0	1.2	0.9	0.2	1.1
重复性限 $r(2.8 \times S_r)$	0.49	0.03	0.11	0.61	0.71	0.72	0.29	1.49
再现性标准偏差(S_R)	0.30	0.06	0.28	0.52	0.45	0.98	0.88	1.20
相对标准偏差 $RSD_R/\%$	116.0	7.5	9.4	4.7	2.2	3.4	1.7	2.5
再现性限 $R(2.8 \times S_R)$	0.85	0.18	0.79	1.45	1.27	2.75	2.47	3.37

表 5 色度坐标 b^* (蓝/黄)

样品识别号	A	B	C	D	E	F	G	H
实验室测试年份	2004	2002	2004	2004	2004	2004	2002	2004
实验室数量	17	21	17	17	17	18	23	18
消除异常值后的实验室数量	15	16	13	14	16	18	23	15
平均值(\bar{X})	10.95	9.04	17.75	17.10	19.68	26.51	45.82	30.07
重复性标准偏差(S_r)	0.25	0.03	0.08	1.08	0.76	0.65	0.15	0.36
相对标准偏差 $RSD_r/\%$	2.3	0.4	0.4	6.3	3.8	2.5	0.3	1.2
重复性限 $r(2.8 \times S_r)$	0.71	0.09	0.21	3.02	2.12	1.83	0.42	1.01
再现性标准偏差(S_R)	0.79	0.19	0.53	1.18	3.34	2.40	1.44	1.56
相对标准偏差 $RSD_R/\%$	7.2	2.1	3.0	6.9	16.9	9.1	3.1	5.2
再现性限 $R(2.8 \times S_R)$	2.22	0.53	1.47	3.31	9.34	6.72	4.03	4.38



附录 A

原则上,在可见光谱范围内,结合色度法公式通过增加激发颜色的相对光谱曲线得到颜色的三色分量 X, Y, Z 。通过实验获得这些函数公式。直接通过整合法不能计算三色值,需通过改变波长周期和求和,来获得这些近似值。

表 A.1

$X = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{X}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$	$T_{(\lambda)}$ 是用光程为 1 cm 的比色皿,在波长 λ 测得的葡萄酒的透射率
$Y = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Y}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$	$\Delta_{(\lambda)}$ 是所测得的 $T_{(\lambda)}$ 中的 λ 间隔
$Z = K \sum_{(\lambda)} T_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Z}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$	$S_{(\lambda)}$ 是表 1 中关于 λ 的函数与光源对应值
$K = 100 / \sum_{(\lambda)} S_{(\lambda)} \bar{Y}_{10(\lambda)} \Delta_{(\lambda)}$	$\bar{X}_{10(\lambda)}; \bar{Y}_{10(\lambda)}; \bar{Z}_{10(\lambda)}$ 是表 1 中关于 λ 的函数与观察位置的对应值

X_n, Y_n 和 Z_n 的值代表在一个光源和一个给定的观察位置测得的理想的扩散值。在这种情况下,光源是 D65 和观察位置能高出 4 度。

$$X_n = 94.825; Y_n = 100; Z_n = 107.381$$

这个大致的均匀空间源于 CIE Y_{xy} 空间,三色分量 X, Y, Z 是基于此空间确定的。三色分量 $X/Y/Z$ 可通过下列公式计算得到色度坐标 L^*, a^* 和 b^* 。

表 A.2

$L^* = 116(Y/Y_n)^{1/3} - 16$	式中 $Y/Y_n > 0.008856$
$L^* = 903.3(Y/Y_n)$	式中 $Y/Y_n \leq 0.008856$
$a^* = 500[f(X/X_n) - f(Y/Y_n)]$	
$b^* = 200[f(Y/Y_n) - f(Z/Z_n)]$	
$f(X/X_n) = (X/X_n)^{1/3}$	式中 $(X/X_n) > 0.008856$
$f(X/X_n) = 7.787(X/X_n) + 16/166$	式中 $(X/X_n) \leq 0.008856$
$f(Y/Y_n) = (Y/Y_n)^{1/3}$	式中 $(Y/Y_n) > 0.008856$
$f(Y/Y_n) = 7.787(Y/Y_n) + 16/116$	式中 $(Y/Y_n) \leq 0.008856$
$f(Z/Z_n) = (Z/Z_n)^{1/3}$	式中 $(Z/Z_n) > 0.008856$
$f(Z/Z_n) = 7.787(Z/Z_n) + 16/116$	式中 $(Z/Z_n) \leq 0.008856$

这两种颜色之间总色度差异是由 CIELab 色差表示。

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

在 CIELab 色度空间中不仅能表示所有颜色的变化,还可以表达 L^*, a^* 和 b^* 中一个或多个参数。因此可用此来定义和它们相关的新的视觉特征参数。

透明度,和亮度有关,直接用 L^* 值表示。

色度: $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ 定义色度感。

色相角: $H^* = \text{tg}^{-1}(b^*/a^*)$ (用度数表示),和色调有关。

色调差: $\Delta H^* = [(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2]^{1/2}$

对于两个未指定的颜色,我们用 ΔC^* 来表示它们的色度差,用 ΔL^* 来表示它们的透明度差, ΔE^* 来表示它们颜色的全部差异。我们可以得到下列公式:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2]^{1/2}$$

表 A.3

波长(λ)/nm	$S_{(\lambda)}$	$\bar{X}_{10(\lambda)}$	$\bar{Y}_{10(\lambda)}$	$\bar{Z}_{10(\lambda)}$
380	50.0	0.000 2	0.000 0	0.000 7
385	52.3	0.000 7	0.000 1	0.002 9
390	54.6	0.002 4	0.000 3	0.010 5
395	68.7	0.007 2	0.000 8	0.032 3
400	82.8	0.019 1	0.002 0	0.086 0
405	87.1	0.043 4	0.004 5	0.197 1
410	91.5	0.084 7	0.008 8	0.389 4
415	92.5	0.140 6	0.014 5	0.656 8
420	93.4	0.204 5	0.021 4	0.972 5
425	90.1	0.264 7	0.029 5	1.282 5
430	86.7	0.314 7	0.038 7	1.553 5
435	95.8	0.357 7	0.049 6	1.798 5
440	104.9	0.383 7	0.062 1	1.967 3
445	110.9	0.386 7	0.074 7	2.027 3
450	117.0	0.370 7	0.089 5	1.994 8
455	117.4	0.343 0	0.106 3	1.900 7
460	117.8	0.302 3	0.128 2	1.745 4
465	116.3	0.254 1	0.152 8	1.554 9
470	114.9	0.195 6	0.185 2	1.317 6
475	115.4	0.132 3	0.219 9	1.030 2
480	115.9	0.080 5	0.253 6	0.772 1
485	112.4	0.041 1	0.297 7	0.570 1
490	108.8	0.016 2	0.339 1	0.415 3
495	109.1	0.005 1	0.395 4	0.302 4
500	109.4	0.003 8	0.460 8	0.218 5
505	108.6	0.015 4	0.531 4	0.159 2
510	107.8	0.037 5	0.606 7	0.112 0
515	106.3	0.071 4	0.685 7	0.082 2
520	104.8	0.117 7	0.761 8	0.060 7
525	106.2	0.173 0	0.823 3	0.043 1
530	107.7	0.236 5	0.8752	0.030 5
535	106.0	0.304 2	0.9238	0.020 6
540	104.4	0.376 8	0.9620	0.013 7

表 A. 3(续)

波长(λ)/nm	$S_{(\lambda)}$	$\bar{X}_{10(\lambda)}$	$\bar{Y}_{10(\lambda)}$	$\bar{Z}_{10(\lambda)}$
545	104.2	0.451 6	0.982 2	0.007 9
550	104.0	0.529 8	0.991 8	0.004 0
555	102.0	0.616 1	0.999 1	0.001 1
560	100.0	0.705 2	0.997 3	0.000 0
565	98.2	0.793 8	0.982 4	0.000 0
570	96.3	0.878 7	0.955 6	0.000 0
575	96.1	0.951 2	0.915 2	0.000 0
580	95.8	1.014 2	0.868 9	0.000 0
585	92.2	1.074 3	0.825 6	0.000 0
590	88.7	1.118 5	0.777 4	0.000 0
595	89.3	1.134 3	0.720 4	0.000 0
600	90.0	1.124 0	0.658 3	0.000 0
605	89.8	1.089 1	0.593 9	0.000 0
610	89.6	1.030 5	0.528 0	0.000 0
615	88.6	0.950 7	0.461 8	0.000 0
620	87.7	0.856 3	0.398 1	0.000 0
625	85.5	0.754 9	0.339 6	0.000 0
630	83.3	0.647 5	0.283 5	0.000 0
635	83.5	0.535 1	0.228 3	0.000 0
640	83.7	0.431 6	0.179 8	0.000 0
645	81.9	0.343 7	0.140 2	0.000 0
650	80.0	0.268 3	0.107 6	0.000 0
655	80.1	0.204 3	0.081 2	0.000 0
660	80.2	0.152 6	0.060 3	0.000 0
665	81.2	0.112 2	0.044 1	0.000 0
670	82.3	0.081 3	0.031 8	0.000 0
675	80.3	0.057 9	0.022 6	0.000 0
680	78.3	0.040 9	0.015 9	0.000 0
685	74.0	0.028 6	0.011 1	0.000 0
690	69.7	0.019 9	0.007 7	0.000 0
695	70.7	0.013 8	0.005 4	0.000 0
700	71.6	0.009 6	0.003 7	0.000 0
705	73.0	0.006 6	0.002 6	0.000 0
710	74.3	0.004 6	0.001 8	0.000 0
715	68.0	0.003 1	0.001 2	0.000 0
720	61.6	0.002 2	0.000 8	0.000 0
725	65.7	0.001 5	0.000 6	0.000 0
730	69.9	0.001 0	0.000 4	0.000 0
735	72.5	0.000 7	0.000 3	0.000 0
740	75.1	0.000 5	0.000 2	0.000 0
745	69.3	0.000 4	0.000 1	0.000 0
750	63.6	0.000 3	0.000 1	0.000 0



表 A. 3(续)

波长(λ)/nm	$S_{(\lambda)}$	$\bar{X}_{10(\lambda)}$	$\bar{Y}_{10(\lambda)}$	$\bar{Z}_{10(\lambda)}$
755	55.0	0.000 2	0.000 1	0.000 0
760	46.4	0.000 1	0.000 0	0.000 0
765	56.6	0.000 1	0.000 0	0.000 0
770	66.8	0.000 1	0.000 0	0.000 0
775	65.1	0.000 0	0.000 0	0.000 0
780	63.4	0.000 0	0.000 0	0.000 0

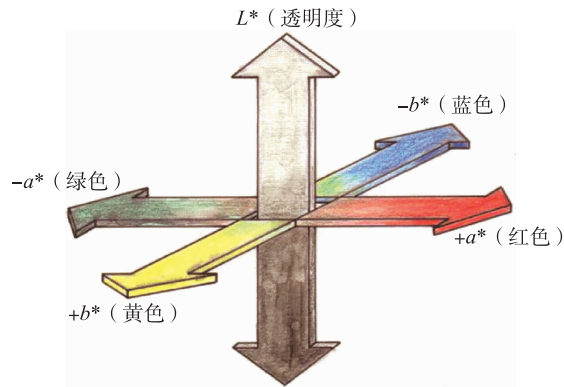


图 A. 1 色度坐标图(根据国际照明委员会 CIE,1976)

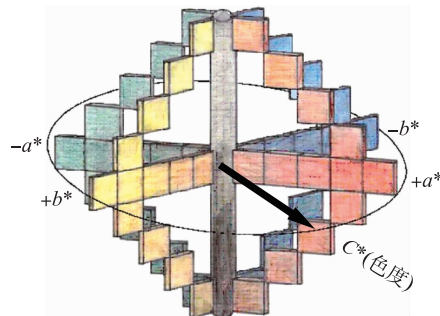


图 A. 2 CIE Lab 色度空间,根据一个连续的或三个正交轴的连续直角坐标表示 L^* 、 a^* 、 b^*

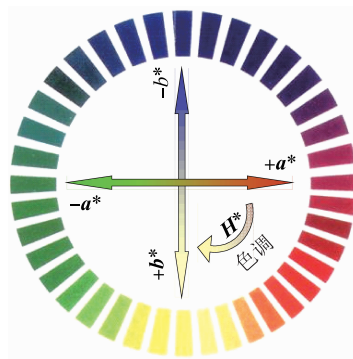


图 A. 3 顺序图或连续的 a 和 b 的色度坐标和衍生的特征参数,如色调(H^*)

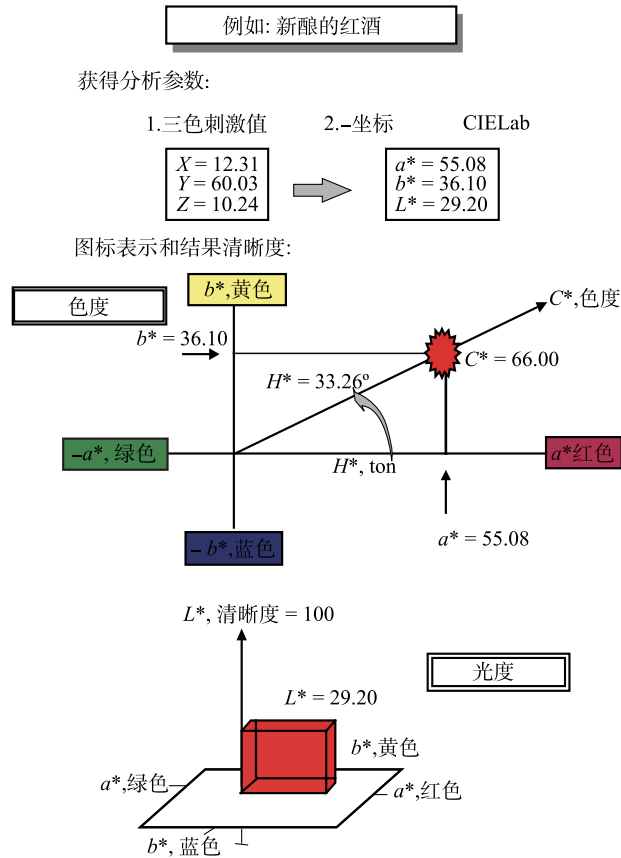


图 A.4 第 1.9 节中新酿红葡萄酒的 CIE Lab 色度三维立体图实例

参 考 文 献

- [1] Vocabulaire International de l'Éclairage. Publication CIE 17. 4. -Publication I. E. C. 50(845). CEI(1987). Genève, Suisse.
- [2] Colorimetry. 2nd Ed. -Publication CIE 15. 2(1986)Vienna.
- [3] Colorimetry. 2nd Ed. -Publication CIE 15. 2(1986)Vienna.
- [4] Kowaliski P. -Vision et mesure de la couleur. Masson ed, Paris 1990.
- [5] Wiszecki G. And W. S. Stiles. Color Science, Concepts and Methods. Quantitative Data and Formulae, 2nd Ed. Wiley, New York 1982.
- [6] Sève R. . -Physique de la couleur. Masson. Paris(1996).
- [7] Echávarri J. F. , Ayala F. et Negueruela A. I. . -Influence du pas de mesure dans le calcul des coordonnées de couleur du vin. Bulletin de l'OIV 831-832, 370-378(2000).
- [8] I. R. A. N. O. R. Magnitudes Colorimétricas, Norma UNE 72-031-83.
- [9] Bertrand A. - Mesure de la couleur. F. V. 1014 2311/190196.
- [10] Fernández, J. I. ; Carcelén, J. C. ; Martínez, A. III Congreso Nacional De Enólogos, 1. 997. -Características cromáticas de vinos rosados y tintos de la cosecha de 1996 en la región de murcia.
- [11] Cagnaso E. . -Metodi Oggettivi per la definizione del colore del vino. Quaderni della Scuoladi Specializzazi-

- one in Scienze Viticole ed Enologiche. Universidad di Torino, 1997.
- [12] Ortega A. P. , Garcia M. E. , Hidalgo J. , Tienda P. . Serrano J. -1995-Identificacion y Normalizacion de los colores del vino, Carta de colores. Atti XXI Congreso Mundial de la Via y el Vino. Punta del Este, ROU 378-391.
- [13] Iniguez M. , Rosales A. , Ayala R. , Puras P. , Ortega A. P. -1995-La cata de color y los parametros CIELab, caso de los vinos tintos de Rioja. Atti XXI Congreso Mundial de la Via y el Vino. Punta del Este, ROU 392-411.
- [14] Billmeyer, F. W. jr. and M. Saltzman; Principles of Color, Technology, 2. Auflage. New York; J. Wiley and Sons, 1981.



稳定同位素质谱法测定葡萄酒和葡萄汁中水的¹⁸O/¹⁶O 比值 (决议 OIV-Oeno 353/2009)

1 范围

本方法描述了用稳定同位素比值质谱仪(IRMS)测定葡萄酒和葡萄汁中的水与二氧化碳平衡后,其中¹⁸O/¹⁶O 同位素比值的方法。

2 引用标准

ISO 5725:1994 测定方法和结果的精度(真实性和精确性) 可重复性的基本测定方法[Accuracy(trueness and precision)of measurement methods and results;Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method.]

V-SMOW 标准 维也纳海水标准[Vienna-Standard Mean Ocean Water(¹⁸O/¹⁶O = RV-SMOW=0.0020052)]

GISP 标准 格陵兰冰盖降水标准(Greenland Ice Sheet Precipitation)

SLAP 标准 南极冰融水标准(Standard Light Antarctic Precipitation)

3 定义

¹⁸O/¹⁶O, 样品中氧同位素¹⁸O 与¹⁶O 的比值

$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$, 样品中氧同位素¹⁸O 与¹⁶O 的相对丰度。 $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$ 根据下列公式计算得出:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}} = \left[\frac{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{样品}} - \left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{标准}}}{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{标准}}} \right] \times 1\,000 [\text{‰}]$$

其中相对丰度 δ 以 V-SMOW 作为基准和参照点。

BCR 欧洲共同体标准物质局

IAEA 国际原子能机构(奥地利,维也纳)

IRMM 欧洲参考物质与测量研究所

IRMS 同位素比值质谱仪

m/z 质荷比

NIST 美国国家标准与技术研究院

RM 参考物质

4 原理

葡萄酒或葡萄汁样品中的水与二氧化碳标准气体进行同位素交换反应并达到同位素平衡。反应如下: $\text{C}^{16}\text{O}_2 + \text{H}_2^{18}\text{O} \leftrightarrow \text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O} + \text{H}_2^{16}\text{O}$ 。

待反应达到平衡后,气相中的二氧化碳用同位素比值质谱仪(IRMS)进行分析,通过测定平衡后的二氧化碳得出水中¹⁸O/¹⁶O 比值。

5 试剂与材料

根据测定方法(见第 6 部分)选择材料及耗材。所有方法均基于葡萄酒或葡萄汁中的水与二氧化碳达到平衡。

5.1 相关参考物质(见表 1)

表 1

名称	来源	$\delta^{18}\text{O}$ 与 V-SMOW 比
V-SMOW, RM 8535	IAEA/NIST	0 ‰
BCR-659	IRMM	-7.18 ‰
GISP, RM 8536	IAEA/NIST	-24.78 ‰
SLAP, RM 8537	IAEA/NIST	-55.5 ‰

5.2 工作标准

5.2.1 测量中用作二级参考气体的二氧化碳。

5.2.2 用于平衡反应的二氧化碳气体(可与 5.2.1 为同一气体,或在连续气体发生系统中产生的氮气-二氧化碳混合气)。

5.2.3 已知 $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$ 校准值的工作标准,可溯源至国际参考物质。

5.3 耗材

分析用氦气。

6 仪器

6.1 同位素比值质谱仪(IRMS)

同位素比值质谱仪(IRMS)可以测定二氧化碳气体中 ^{18}O 的相对含量,内部精度为 0.05‰。这里的内部精度是指对同一二氧化碳样品连续测定两次的误差。

质谱仪用来测定二氧化碳气体的同位素组成,应配备三重捕集器,以便同时测定下述离子流强度:

—— $m/z=44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$

—— $m/z=45(^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ 和 $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O})$

—— $m/z=46(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$, $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{17}\text{O}$ 和 $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O})$

通过测量相对强度,根据 $m/z=46$ 和 $m/z=44$ 的强度比值度,经校正后,通过质荷比 $m/z=45$ 的信号强度以及 ^{13}C 和 ^{17}O 在自然界的同位素含量计算出后两种离子对($^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{17}\text{O}$ 和 $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$)的贡献度,得出 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 同位素比值。

同位素比值质谱仪应有如下配置:

——双路进样系统:交替测定未知样品及参考标准物质。

——连续流动进样系统:将样品瓶中达到平衡状态的二氧化碳气体或二氧化碳标准气体定量转移到 IRMS 中测定。



6.2 设备和材料

- 6.2.1 所选系统与配套的反应瓶和隔垫。
- 6.2.2 合适的移液管。
- 6.2.3 恒定平衡反应时温度控制系统,控温精度为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.2.4 真空泵(根据所用方法,可选)。
- 6.2.5 自动进样器(根据所用方法,可选)。
- 6.2.6 进样针(根据所用方法,可选)。
- 6.2.7 分离二氧化碳及其他气体的气相色谱柱(根据所用方法,可选)。
- 6.2.8 除水装置(如低温冷阱、选择性渗透膜)。

7 取样

葡萄酒和葡萄汁样品,及相关参考物质不需任何预处理可直接测定。为防止样品发酵,可添加苯甲酸(或其他发酵抑制剂)或用 $0.22\ \mu\text{m}$ 孔径的滤膜过滤。

参考物质用于校准和漂移校正,在测试开始及最后均需测定参考物质,另外每隔10个样品最好插入一个参考物质测定。

8 步骤

下述步骤仅适用于利用水二氧化碳平衡原理,用IRMS测定水中 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 同位素比值的方法。这些步骤可根据所使用的仪器、设备的实际情况进行相应调整。进样装置选择双路进样系统或连续流动进样系统,这两种技术手段都可以作为二氧化碳的进样方法。这些技术以及相应的操作条件在此不一一描述。

注:所有给定的参数诸如体积、温度、压力和时间仅是推荐值,具体参数需根据仪器特点和(或)实验条件确定。

8.1 手动平衡

用移液管将一定体积的样品/标准加入到反应瓶中,然后将反应瓶紧密连接在歧管上。将歧管放在 -80°C 的冷液中冻结样品(若歧管上配有毛细管道则不需该冷冻步骤);然后整个系统开始抽真空;当真空度达到稳定状态后,向各反应瓶中导入二氧化碳工作标准气体;在平衡过程中将歧管置于 25°C (温控精度为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$)水浴中12 h(过夜),须保证水浴温度恒定、均匀。

水-二氧化碳交换反应达到平衡后,反应产生的二氧化碳从反应瓶转移至双路进样系统的样品仓内。多次交替测定双路进样系统中样品仓和标准仓内的二氧化碳标准气体。该测定过程持续至所有样品都测定完毕。

8.2 自动平衡仪

用移液管向反应瓶中加入一定体积的样品/标准品。将装有样品的反应瓶连在平衡系统上,在冷液(-80°C)中冻结样品(若系统上配有毛细管道则不需此冷冻步骤);然后整个系统抽真空。

当真空度达到稳定状态后,向各反应瓶中导入二氧化碳工作标准气体。反应一般在 $22^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 经适度搅拌至少5 h后可达到平衡。达到平衡的时间取决于很多因素(如反应瓶

的形状、温度、搅拌……), 需经实验确定。

水-二氧化碳交换反应达到平衡后, 反应产生的二氧化碳从反应瓶转移至双路进样系统的样品仓内。多次交替测定双路进样系统中样品仓和标准仓内的 CO_2 标准气体。该测定过程持续至该批样品测定完毕。

8.3 手动/自动平衡联用双路进样 IRMS

用移液管向反应瓶中加入一定体积(如 $200\ \mu\text{L}$)的样品或标准品。将开口反应瓶放置在充满用于平衡反应(5.2.2)的纯二氧化碳气体的密闭腔体中。排除痕量空气, 密封反应瓶瓶口并置于样品转换器的恒温盘中。 40°C 时需至少 8 h 才能达到平衡。达到平衡后, 反应瓶中的二氧化碳气体经干燥后转移至双路进样系统的样品仓。多次交替测定双路进样系统中样品仓和标准仓内的二氧化碳标准气体, 直至该批样品测定完毕。

8.4 自动平衡仪和连续流动进样系统联用

用移液管向反应瓶中加入一定体积的样品或标准品。反应瓶置于温控盘中。用一根气体进样针向反应瓶中充入氮-二氧化碳混合气。反应瓶顶部空间中的二氧化碳用于进行交换反应。

一般在温度 $30^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 条件下最少经 18 h 达到交换平衡。

交换反应达到完全平衡后, 将反应瓶中的二氧化碳经连续流动系统转移至质谱仪的离子源中进行分析。二氧化碳参考气体也经由连续流动系统导入到 IRMS 中。

9 计算

IRMS 自动记录每个样品气或参考气中 m/z 分别为 44、45、46 离子的信号强度并根据 6.1 中的原理由 IRMS 仪器所带的软件自动计算出样品气 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 同位素比值。在实际测定过程中 IRMS 给出一个以工作标准(事先经 V-SMOW 标定)为基准的样品 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 比值。

测定过程中可能由于仪器条件差异而导致测定结果发生微小变化。在这种情况下样品中的 $\delta^{18}\text{O}$ 必须根据工作标准的实测值与给定值的差异进行校正。工作标准必须在测定序列的开始和结束进行测定, 然后根据前后两次测定值(工作标准的给定值和实测值)用线性内插法进行校正。

最终结果是相对 $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$ 值(‰)的形式表示, $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$ 按如下公式计算得出:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}} = \left[\frac{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}_{\text{样品}} \right) - \left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}_{\text{V-SMOW}} \right)}{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}_{\text{V-SMOW}} \right)} \right] \times 1000 [\text{‰}]$$

应用下述公式对样品测定结果以 V-SMOW/SLAP 方式进行归一化处理:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW/SLAP}} = \left[\frac{\delta^{18}\text{O}_{\text{样品}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}}{\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{SLAP}}} \right] \times 55.5 [\text{‰}]$$

SLAP 承认的 $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$ 为 -55.5‰ (见 5.1)。

10 精密度

重复性限(r)等于 0.24‰ 。

再现性限(R)等于 0.50‰ 。

表2 统计结果汇总表

样品		测定平均值/ ‰	重复性标准/ 偏差 S_r / ‰	重复性限 r / ‰	再现性标准 偏差 S_R / ‰	再现性 限 R / ‰
水	样品 1	-8.20	0.068	0.19	0.171	0.48
	样品 2	-8.22	0.096	0.27	0.136	0.38
葡萄酒 1	样品 5	6.87	0.098	0.27	0.220	0.62
	样品 8	6.02	0.074	0.21	0.167	0.47
	样品 9	5.19	0.094	0.26	0.194	0.54
	样品 4	3.59	0.106	0.30	0.205	0.57
葡萄酒 2	样品 3	-1.54	0.065	0.18	0.165	0.46
	样品 6	-1.79	0.078	0.22	0.141	0.40
	样品 7	-2.04	0.089	0.25	0.173	0.49
	样品 10	-2.61	0.103	0.29	0.200	0.56

11 实验室间比对实验

Bulletin de l'O. I. V. janvier-février 1997, 791-792, p. 53-65.

参 考 文 献

- [1] Allison, C. E. , Francey, R. J. and Meijer, H. A. , (1995) Recommendations for the Reporting of Stable Isotopes Measurements of carbon and oxygen. Proceedings of a consultants meeting held in Vienna, 1-3. Dec. 1993, IAEA-TECDOC-825, 155-162, Vienna, Austria.
- [2] Baertschi, P. , (1976) Absolute ^{18}O Content of Standard Mean Ocean Water. *Earth and Planetary Science Letters*, 31, 341-344.
- [3] Breas, O. , Reniero, F. and Serrini, G. , (1994) Isotope Ratio Mass Spectrometry: Analysis of wines from different European Countries. *Rap. Comm. Mass Spectrom.* , 8, 967-987.
- [4] Craig, H. , (1957) Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 12, 133-149.
- [5] Craig, H. , (1961) Isotopic Variations in Meteoric Waters. *Science*, 133, 1702-1703.
- [6] Craig, H. , (1961) Standard for reporting concentrations of deuterium and oxygen-18 in natural waters. *Science*, 133, 1833-1834.
- [7] Coplen, T. , (1988) Normalization of oxygen and hydrogen data. *Chemical Geology (Isotope Geoscience Section)*, 72, 293-297.
- [8] Coplen, T. and Hopple, J. , (1995) Audit of V-SMOW distributed by the US National Institute of Standards and Technology. Proceedings of a consultants meeting held in Vienna. 1-3. Dec. 1993, IAEA-TEC-DOC-825, 35-38 IAEA, Vienna, Austria.
- [9] Dunbar, J. , (1982) Detection of added water and sugar in New Zealand commercial wines. Elsevier Scientific Publishing Corp. Edts. Amsterdam, 1495-501.

- [10] Epstein, S. and Mayeda, T. (1953) Variations of the $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratio in natural waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 4, 213 .
- [11] Frstel, H. (1992) Projet de description d'une méthode : variation naturelle du rapport des isotopes ^{16}O et ^{18}O dans l'eau comme méthode d'analyse physique du vin en vue du contrôle de l'origine et de l'addition d'eau. *OIV, FV n° 919, 1955/220792*.
- [12] Gonfiantini, R. , (1978) Standards for stable isotope measurements in natural compounds. *Nature*, 271, 534-536.
- [13] Gonfiantini, R. , (1987) Report on an advisory group meeting on stable isotope reference samples for geochemical and hydrochemical investigations. IAEA, Vienna, Austria.
- [14] Gonfiantini, R. , Stichler, W. and Rozanski, K. . (1995) Standards and Intercomparison Materials distributed by the IAEA for Stable Isotopes Measurements. Proceedings of a consultants meeting held in Vienna, 1-3, Dec. 1993, *IAEA-TECDOC-825*, 13-29 Vienna, Austria.
- [15] Guidelines for Collaborative Study Procedures (1989) *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* , 72, 694-704.
- [16] Martin, G. J. , Zhang, B. L. , Day, M. and Lees, M. . (1993) Authentification des vins et des produits de la vigne par utilisation conjointe des analyses élémentaire et isotopique. *OIV, F. V.* , n°917, 1953/220792.
- [17] Martin, G. J. , Förstel, H. and Moussa, I. (1995) La recherche du mouillage des vins par analyse isotopique ^2H et ^{18}O . *OIV, FV n° 1006, 2268/240595*.
- [18] Martin, G. J. (1996) Recherche du mouillage des vins par la mesure de la teneur en ^{18}O de l'eau des vins. *OIV, FV n° 1018, 2325/300196*.
- [19] Martin, G. J. and Lees, M. , (1997) Détection de l'enrichissement des vins par concentration des moûts au moyen de l'analyse isotopique ^2H et ^{18}O de l'eau des vins. *OIV, FV n° 1019, 2326/300196*.
- [20] Moussa, I. , (1992) Recherche du mouillage dans les vins par spectrométrie de masse des rapports isotopiques (SMRI). *OIV, FV n° 915, 1937/130592*.
- [21] Werner, R. A. and Brand, W. , (2001) Reference Strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. *Rap. Comm. Mass Spectrom.* , 15, 501-519.
- [22] Zhang, B. L. , Fourel, F. , Naulet, N. and Martin, G. J. , (1992) Influence de l'expérimentation et du traitement de l'échantillon sur la précision et la justesse des mesures des rapports isotopiques (D/H) et ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$). *OIV, F. V.* n° 918, 1954/220792.



过筛法测定橡木片尺寸

(Oeno 406-2011)

1 简介

陈酿葡萄酒所使用的橡木片(俗称小木片)是由酿酒食品法典委员会(Oeno3/2005)授权提供并符合一定规格。例如:一批橡木片经 2 mm 网孔(9 目)筛选后的重量应至少达到其原重的 95%。下面介绍一种橡木片的选用和其尺寸的筛选方法。

2 适用范围

该方法适用于不少于 0.5 kg 的橡木测试样品。

3 原理

分割初始待测样品,取一定数量的橡木片(约 200 g)放置在振动筛上。振动筛选后,称量残留在振动筛上的橡木片,就可以测定残留在振动筛上的橡木片的重量百分比。

4 设备

- 标准实验室设备。
- 2 mm 孔径的网眼筛(9 目),直径 30 cm,安装在装有恢复盘的振动板上。
- 称量器,精度为 0.1 g。
- 开槽式试样分配器(如图 1)。

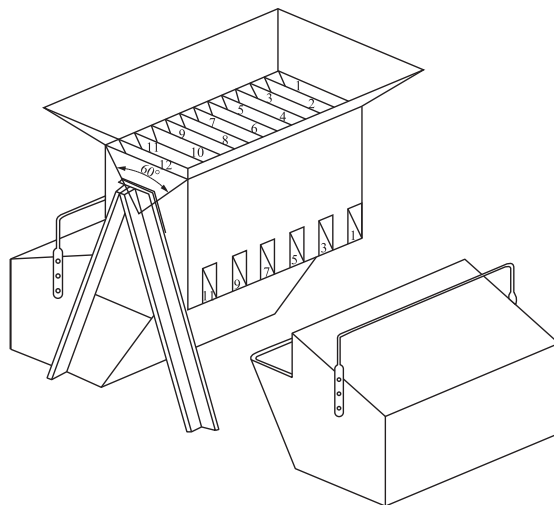


图 1 槽式样品分离机(EN 1482-1:2007)实例

5 分割测试样品

为了得到 200 g 具有均匀性、代表性的试样,可以使用槽式样品分配器,将样品随机分成 2 份。

首先将测试样品全部倒进分配器中,当第一次分配后将一份分成两份,将其中的一份再次通过槽式分配机进行分离,另一份放置一旁。根据需要重复操作分离,每次分配后会有一半被排除,直到获得两份约 200 g 的小样。

6 操作步骤

——称量空筛(W_{ES})。

——称量空的恢复盘(W_{ET})。

——称量筛和恢复盘部件皮重,将约 200 g 的橡木片放于其上并称量,称量精度要达到 0.1 g。 W_{OAK} 是筛选前橡木片的质量。

——把称量好的带有样品的恢复盘放在振动盘上并夹紧后关闭盖子。

——启动设备,让其运行振动 15 min。

——称量未过 2 mm 筛网的样品及振动筛(W_{PS})。

——称量通过筛网的样品及恢复盘(W_{PT})。

将同一测试样本的第二份样品在相同条件下进行第二次测试。

应符合: $W_{ES} + W_{ET} + W_{OAK} = W_{PS} + W_{PT}$

7 计算

通过 2 mm 网眼筛选后未过筛样品的重量百分比按下式计算:

$$\text{未过筛样品}(\%) = \frac{W_{PS} - W_{ES}}{W_{OAK}} \times 100$$

最终的结果取平均值。

参 考 文 献

[1] Resolution OENO 3/2005 PIECES OF OAK WOOD.

[2] EN1482-1-Fertilizers and liming materials. Sampling and sample preparation. Part 1: Sampling.

第 3 章 化学检测

3.1 有机类化合物

3.1.1 糖类

方法 OIV-MA-AS311-01A

方法类型 IV

还原性物质

(决议 Oeno 377/2009)

1 定义

还原性物质包括所有含醛基和酮基的糖类,其含量是根据它们在碱性溶液中与铜盐溶液的还原作用进行测定的。

2 方法原理

用中性醋酸铅或亚铁氰化锌将葡萄酒进行澄清处理后,进行还原糖的测定。

3 澄清

待测样品的含糖量应在 0.5 g/L~5 g/L 之间。

干型葡萄酒在澄清过程中不需要稀释,而甜型葡萄酒在澄清过程中应进行稀释,从而使其含糖量处于表 1 范围内:

表 1

分类	含糖量/(g/L)	密度/(g/mL)	稀释度/%
未经发酵葡萄汁和蜜甜尔酒	>125	>1.038	1
强化或未强化的甜型葡萄酒	25~125	1.005~1.038	4
半甜型葡萄酒	5~25	0.997~1.005	20
干型葡萄酒	<5	<0.997	不稀释

3.1 中性醋酸铅澄清法

3.1.1 试剂

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

1 mol/L 氢氧化钠溶液; 碳酸钙。

3.1.2 步骤

干型葡萄酒:

取 50 mL 葡萄酒置于一个 100 mL 的容量瓶中, 加入 $0.5(n-0.5)$ mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液(n 为用于测定 10 mL 葡萄酒的总酸所耗的 0.1 mol/L 氢氧化钠的体积数)。在不停搅拌的情况下加入 2.5 mL 醋酸铅饱和溶液和 0.5 g 碳酸钙。振摇多次后静置至少 15 min, 期间再振摇几次, 加水至刻度线后过滤。1 mL 滤液相当于 0.5 mL 葡萄酒。

葡萄汁、蜜甜尔酒、甜型葡萄酒和半干型葡萄酒:

在 100 mL 的容量瓶中, 加入以下体积的葡萄酒(或葡萄汁或蜜甜尔酒)。

第一种情况: 葡萄汁和蜜甜尔酒: 将试样按 10%(V/V) 稀释, 取 10 mL 稀释液。

第二种情况: 密度在 1.005 g/mL~1.038 g/mL 之间强化或未强化的甜型葡萄酒: 将试样按 20%(V/V) 稀释, 取 20 mL 稀释液。

第三种情况: 密度在 0.997 g/mL~1.005 g/mL 之间的半甜型葡萄酒: 取 20 mL 未稀释的葡萄酒。

在上述葡萄汁或葡萄酒中加入 0.5 g 碳酸钙, 约 60 mL 水, 0.5 mL、1 mL 或 2 mL 的饱和醋酸铅溶液, 振摇多次后静置至少 15 min, 期间再振摇几次, 加水至刻度线后过滤。

注: 第一种情况: 1 mL 滤液相当于 0.01 mL 葡萄汁或蜜甜尔酒。第二种情况: 1 mL 滤液相当于 0.04 mL 甜型葡萄酒。第三种情况: 1 mL 滤液相当于 0.20 mL 半干型葡萄酒。

3.2 亚铁氰化锌(II)澄清法

该澄清方法只适用于白葡萄酒、浅色甜型葡萄酒和葡萄汁。

3.2.1 试剂

溶液 I —— 亚铁氰化钾溶液(I): 称取亚铁氰化钾(I), $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ 150 g, 加水溶解至 1 000 mL。

溶液 II —— 硫酸锌溶液: 称取硫酸锌, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 300 g, 加水溶解至 1 000 mL。

3.2.2 步骤

在 100 mL 的容量瓶中, 加入下述体积的葡萄酒(葡萄汁或蜜甜尔酒)。

第一种情况: 葡萄汁和蜜甜尔酒: 将试样按 10%(V/V) 稀释, 取 10 mL 稀释液。

第二种情况: 密度在 1.005 g/mL~1.038 g/mL 之间加化或未强化的甜型葡萄酒: 将试样按 20%(V/V) 稀释, 取 20 mL 稀释液。

第三种情况: 20°C 时密度在 0.997 g/mL~1.005 g/mL 之间半甜型葡萄酒: 取 20 mL 未稀释的葡萄酒。

第四种情况: 干型葡萄酒: 取 50 mL 未经稀释的葡萄酒。

加入 5 mL 亚铁氰化钾溶液(溶液 I) 和 5 mL 硫酸锌溶液(溶液 II), 混合后加水至刻度, 过滤。

注: 第一种情况: 1 mL 滤液相当于 0.01 mL 葡萄汁或蜜甜尔酒。

第二种情况: 1 mL 滤液相当于 0.04 mL 甜型葡萄酒。

第三种情况: 1 mL 滤液相当于 0.20 mL 半甜型葡萄酒。

第四种情况: 1 mL 滤液相当于 0.50 mL 干型葡萄酒。



4 还原糖的测定

4.1 试剂

碱性铜盐溶液:分别称取纯硫酸铜 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 25 g、一水合柠檬酸 50 g、结晶碳酸钠 $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 388 g,加水溶解至 1 000 mL。

将硫酸铜溶于 100 mL 水中,柠檬酸溶于 300 mL 水中,碳酸钠溶于 300 mL~400 mL 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 1 L。

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

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

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

硫代硫酸钠溶液:0.1 mol/L。

转化糖溶液:5 g/L,此溶液用于验证测定方法。

在 200 mL 容量瓶中加入:纯净干燥的蔗糖 4.75 g、水(约)100 mL、浓盐酸(1.16 g/mL~1.19 g/mL)5 mL。

将容量瓶置于 60℃ 水浴中,待溶液温度达到 50℃ 后,保持 15 min。先将此容量瓶自然冷却 30 min,再浸入冷水浴中冷却。将此容量瓶中的溶液转移入 1 L 容量瓶中,加水至刻度。在正常情况下,此溶液可以存放 1 个月。使用前,用氢氧化钠溶液中和该溶液(此溶液酸的浓度约为 0.06 mol/L)。

4.2 步骤

在 300 mL 的锥形瓶中加入 25 mL 碱性铜盐溶液,15 mL 水和 10 mL 澄清试剂。其中转化糖溶液中所含的转化糖不得超过 60 mg。

加入若干粒沸石,在锥形瓶上装一个回流冷凝器,在 2 min 内使锥形瓶中的溶液沸腾,并且保持沸腾 10 min。

将锥形瓶立即在流动冷水下进行冷却。待完全冷却后,加入 10 mL 30%(m/V)碘化钾溶液,25 mL 25%(m/V)硫酸和 2 mL 淀粉溶液。

用 0.1 mol/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数 n (mL)。同时用 25 mL 蒸馏水代替 25 mL 蔗糖溶液进行空白试验,记录消耗硫代硫酸钠溶液的体积数 n' (mL)。

4.3 结果计算

表 2 中给出了试样消耗的硫代硫酸钠的体积数($n' - n$) mL 所对应的试样中还原糖的含量(以转化糖计)。

葡萄酒中所含的还原糖以转化糖的质量浓度(g/L)表示,保留一位小数,计算中需考虑澄清过程中所做的稀释以及所用试样的体积。

表2 硫代硫酸钠溶液体积($n' - n$) mL 与还原糖质量(mg)之间关系表

0.1 mol/L 硫代硫酸钠体积/mL	还原糖/mg	差值	0.1 mol/L 硫代硫酸钠体积/mL	还原糖/mg	差值
1	2.4	2.4	13	33.0	2.7
2	4.8	2.4	14	35.7	2.8
3	7.2	2.5	15	38.5	2.8
4	9.7	2.5	16	41.3	2.9
5	12.2	2.5	17	44.2	2.9
6	14.7	2.6	18	47.2	2.9
7	17.2	2.6	19	50.0	3.0
8	19.8	2.6	20	53.0	3.0
9	22.4	2.6	21	56.0	3.1
10	25.0	2.6	22	59.1	3.1
11	27.6	2.7	23	62.2	
12	30.3	2.7			

参 考 文 献

- [1] JAULMES P. , Analyses des vins, 1951, 170, Montpellier.
- [2] JAULMES P. , BRUN Mme S. , ROQUES Mme J. , Trav. Soc. Pharm. , 1963, 23, 19.
- [3] SCHNEYDER J. , VLECK G. , Mitt. Klosterneuburg, Rebe und Wein, 1961, sér. A, 135.



葡萄糖和果糖(酶法)

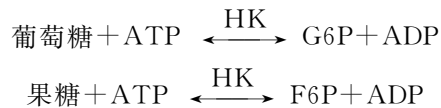
(决议 Oeno 377/2009)

1 定义

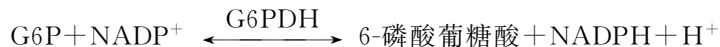
葡萄糖和果糖都可以用酶法分别进行测定,目的是为了计算葡萄糖与果糖之比。

2 原理

葡萄糖和果糖在己糖激酶(HK)的作用下,被三磷酸腺苷(ATP)磷酸化,生成 6-磷酸葡萄糖(G6P)和 6-磷酸果糖(F6P):



在 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(G6PDH)存在的情况下,6-磷酸葡萄糖被烟酰胺嘌呤双核苷酸(NADP)氧化成 6-磷酸葡萄糖酸。还原型烟酰胺嘌呤双核苷酸(NADPH)的数量与 6-磷酸葡萄糖的量存在对应关系,也与葡萄酒中葡萄糖的量存在对应关系。



还原型磷酸烟酰胺嘌呤双核苷酸的量可根据它在 340 nm 条件下的吸光度变化而测定。在反应的终点,6-磷酸果糖在磷酸葡萄糖异构酶(PGI)的作用下转化成 6-磷酸葡萄糖。



6-磷酸葡萄糖再与磷酸烟酰胺嘌呤双核苷酸起反应生成的 6-磷酸葡萄糖酸和还原型磷酸烟酰胺嘌呤双核苷酸,然后对其进行测定。

3 仪器设备

可在 340 nm(NADPH 的最大吸收波长)条件下进行测量的分光光度计。由于使用绝对测量(即:不是用校准曲线,而是用 NADPH 的消光系数来进行校准。),分光光度计的波长和吸光度应事先校正。

如果没有分光光度计,可以用能在 334 nm 或 365 nm 条件下进行测量的不连续光谱光度计进行测定。

光程 1 cm 的玻璃比色皿或一次性比色皿。

容量分别为 0.02 mL、0.05 mL、0.1 mL 和 0.2 mL 的酶试验溶液用移液管。

4 试剂

溶液 1:缓冲溶液(0.3 mol/L 三乙醇胺,pH=7.6, $c[\text{Mg}^{2+}] = 0.004 \text{ mol/L}$):将 11.2 g 盐酸三乙醇胺 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3\text{N} \cdot \text{HCl}$ 和 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶于 150 mL 双蒸水中,加入 4 mL 5 mol/L 的氢氧化钠溶液,使 pH 等于 7.6,加水至 200 mL。此缓冲溶液在 4℃ 条件下可保存 4 周。

溶液 2:磷酸烟酰胺嘌呤双核苷酸(约 0.011 5 mol/L):将 50 mg 磷酸烟酰胺嘌呤双核苷酸二钠溶于 5 mL 双蒸水中。此缓冲溶液在 4℃ 条件下可保存 4 周。

溶液 3:5'-三磷酸腺苷溶液(约 0.081 mol/L):将 250 mg 5'-三磷酸腺苷二钠和 250 mg 碳酸氢钠溶于 5 mL 双蒸水中。此缓冲溶液在 4℃ 条件下可保存 4 周。

溶液 4:己糖激酶/6-磷酸葡萄糖脱氢酶:将 0.5 mL 己糖激酶(2 mg 蛋白质/mL 或 280 U/mL)与 0.5 mL 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(1 mg 蛋白质/mL)混合。此缓冲溶液在 4℃ 条件下可保存 1 年。

溶液 5:磷酸葡萄糖异构酶(蛋白质 2 mg/mL 或 700 U/mL),此悬浮液可直接使用,无需稀释。此缓冲溶液在 4℃ 条件下可保存 1 年。

注:所有上述使用的溶液都已商品化。

5 步骤

5.1 试样的制备

根据每升试样中葡萄糖和果糖总含量的估值,按表 1 进行稀释:

表 1

在 340 nm 和 344 nm 下测定/ (g/L)	在 365 nm 下测定/ (g/L)	用水稀释	稀释因子 F
0.4 以下	0.8	—	—
4.0 以下	8.0	1+9	10
10.0 以下	20.0	1+24	25
20.0 以下	40.0	1+49	50
40.0 以下	80.0	1+99	100
40.0 以上	80.0	1+999	1000

5.2 测定

分光光度计测定波长为 340 nm,以空气(在光路中不放比色皿)或水为参比。

温度为 20℃~25℃。

按下述方法向两个光程为 1 cm 的比色皿中添加:

	参比皿	样品皿
溶液 1(保持在 20℃)	2.50 mL	2.50 mL
溶液 2	0.10 mL	0.10 mL
溶液 3	0.10 mL	0.10 mL
待测定样品		0.20 mL
双蒸水		0.20 mL

混合,3 min 后读取溶液的吸光度值(A_1),分别向两个比色皿中加入下述溶液进行反应。

溶液 4	0.02 mL	0.02 mL
------------	---------	---------

混合,15 min 后读取吸光度值(A_2),2 min 后确认反应终止后,立即向两个比色皿中



加入:

溶液 5 0.02 mL 0.02 mL

混合, 10 min 后读取吸光度值(A_3), 2 min 后确认反应终止。

计算参比皿和样品皿之间的吸光度差值:

$$\text{对应于葡萄糖: } A_2 - A_1$$

$$\text{对应于果糖: } A_3 - A_2$$

按同法计算参比皿吸光度之间的差值(ΔA_T)与样品皿吸光度之间的差值(ΔA_D), 从而可得:

$$\text{葡萄糖: } \Delta A_G = \Delta A_D - \Delta A_T$$

$$\text{果糖: } \Delta A_F = \Delta A_D - \Delta A_T$$

注: 酶促反应所需的时间可能会由于每一批酶的活力不同而有所变化, 所有上述所给出的条件仅作参考, 建议每批试剂都应该根据具体情况进行测定。

5.3 结果表示

5.3.1 计算

浓度计算的通式如下:

$$c = \frac{V \times M_w}{\epsilon \times d \times v \times 10\,000} \Delta A \text{ (g/L)}$$

其中: V ——试液体积(mL), 检测葡萄糖: $V = 2.92$ mL; 检测果糖: $V = 2.94$ mL;

v ——试样体积(mL), $v = 20$ mL;

M_w ——待测物质的分子质量, $M_w = 180$;

d ——比色皿的光程(cm), $d = 1$ cm;

ϵ ——在 340 nm 条件下 NADPH 的吸光系数为 6.3。

由此得出:

$$\text{葡萄糖: } c \text{ (g/L)} = 0.417 \times \Delta A_G$$

$$\text{果糖: } c \text{ (g/L)} = 0.420 \times \Delta A_F$$

如果样品在制备过程中进行了稀释, 则此结果应再乘以稀释因子 F 。

注: 如果是在波长 334 nm 或 365 nm 条件下进行测定, 则可以得出:

在 334 nm 测定: $\epsilon = 6.2$

$$\text{葡萄糖: } c \text{ (g/L)} = 0.425 \times \Delta A_G$$

$$\text{果糖: } c \text{ (g/L)} = 0.428 \times \Delta A_F$$

在 365 nm 测定: $\epsilon = 3.4$

$$\text{葡萄糖: } c \text{ (g/L)} = 0.773 \times \Delta A_G$$

$$\text{果糖: } c \text{ (g/L)} = 0.778 \times \Delta A_F$$

5.3.2 重复性限 r

$$r = 0.056x_i$$

其中 x_i 为葡萄糖或果糖的浓度, g/L。

5.3.3 再现性限 R

$$R = 0.12 + 0.076x_i$$

其中 x_i 为葡萄糖或果糖的浓度, g/L。

参 考 文 献

- [1] BERGMEYER H. U. , BERNT E. , SCHMIDT F. and STORK H. , Méthodes d'analyse enzymatique by BERGMEYER H. U. , 2e éd. , p. 1163, Verlag-Chemie Weinheim/Bergstraße, 1970.
- [2] BOEHRINGER Mannheim, Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire, documentation technique.
JUNGE Ch. , F. V. , O. I. V. , 1973, No 438.



高效液相色谱法测定含糖量

(决议 23/2003)

1 应用范围

本方法规定了采用高效液相色谱法检测葡萄汁和葡萄酒中果糖、葡萄糖和蔗糖的方法。

2 原理

糖和甘油直接用高效液相色谱配示差折光检测器检测。

3 试剂以及反应液的制备

3.1 去离子水:经 0.45 μm 纤维素膜过滤后使用。

3.2 乙腈:纯度 $>99\%$ 。

3.3 甲醇:纯度 $>99\%$ 。

3.4 乙醇 95%~96%。

3.5 果糖:纯度 $>99\%$ 。

3.6 葡萄糖:纯度 $>99\%$ 。

3.7 蔗糖 D(+):纯度 $>99\%$ 。

3.8 甘油:纯度 $>99\%$ 。

3.9 氮气:纯度 $>99\%$ 。

3.10 氦气:纯度 $>99\%$ 。

3.11 流动相:用 1 L 的量筒,量取 800 mL 乙腈和 200 mL 水倒入 1 L 的烧瓶中,用氦气进行脱气。

4 仪器

4.1 100 mL 锥形瓶。

4.2 100 mL 量筒。

4.3 50 mL 量筒。

4.4 10 mL 移液器。

4.5 10 mL 移液器枪头。

4.6 100 mL 容量瓶。

4.7 1 L 量筒。

4.8 1 L 烧瓶。

4.9 带有针头的 20 mL 注射器。

4.10 带有针头的 10 mL 注射器。

4.11 过滤装置。

4.12 过滤固定器。

- 4.13 0.45 μm 纤维素膜。
- 4.14 0.8 μm 纤维素膜。
- 4.15 1.2 μm 纤维素膜。
- 4.16 5.0 μm 纤维素膜。
- 4.17 纤维素预过滤器。
- 4.18 C_{18} 固相萃取柱。
- 4.19 可拉伸的薄膜,如石蜡封口膜。
- 4.20 10 mL 锥形瓶。
- 4.21 高效液相色谱仪。
- 4.22 氨基柱(长 25 cm,内径 4 mm,5 μm)。
- 4.23 示差折光检测器:用乙腈-水流动相润洗参比池 1~2 次(在两次分析之间)。等待 20 min 左右,使基线平稳。随后对示差折光检测器进行调零。
- 4.24 超声水浴。

5 制样

样品应预先用氮气在超声水浴中脱气。

6 步骤

6.1 样品制备

6.1.1 过滤

6.1.1.1 利用 20 mL 带针头的注射器,吸取 25 mL 样品并进行过滤:

——葡萄酒用 0.45 μm 的膜;

——葡萄汁或未经过澄清的葡萄酒用 0.45 μm —0.8 μm —1.2 μm —5.0 μm 的叠加膜外加预过滤器。

6.1.1.2 葡萄汁需稀释 5 倍。用 10 mL 带枪头的自动移液器吸取 20 mL 样品,加入 100 mL 容量瓶中。用去离子水定容到 100 mL,再用石蜡封口膜封住瓶口,混匀。

6.1.2 酚类物质的去除

葡萄酒和葡萄汁需要经由 C_{18} 固相萃取柱进行过滤。

6.1.2.1 C_{18} 萃取柱的准备:依次用 10 mL 甲醇、10 mL 去离子水从相反的方向(口径大的那一端)对 C_{18} 萃取柱进行活化。

6.1.2.2 过 C_{18} 萃取柱:先用约 2 mL 样品对润洗 10 mL 注射器。吸取约 9 mL 样品,将 C_{18} 萃取柱的小口径那一端与 10 mL 注射器连在一起,过滤葡萄酒样品,弃去最初的 3 mL 滤液。将剩余的 6 mL 滤液收集在 10 mL 的锥形瓶中。每次过滤完样品后,依次用 10 mL 甲醇、10 mL 去离子水从相反的方向对 C_{18} 萃取柱进行润洗,使过滤柱能重复使用。

6.1.3 常规清洗

每次使用注射器和过滤装置后,都要用去离子水进行润洗;过滤固定器先用热水,再用甲醇进行润洗,最后自然风干。



6.2 分析

6.2.1 分析条件

流动相:等度洗脱乙腈:水为80:20(体积比)。

流速:1 mL/min。

进样量:20 μ L。

检测器的参数通过检测使用的仪器来设置。

附录A的图A.1和图A.2给出了色谱图的示例。

6.2.2 外标法定量

混合标准品的组成:

果糖(3.5)10 g/L \pm 0.01 g/L;

葡萄糖(3.6)10 g/L \pm 0.01 g/L;

蔗糖(3.7)10 g/L \pm 0.01 g/L;

可加入10 g/L \pm 0.01 g/L的甘油(3.8)对其进行定量。

响应值的计算

$$RF = A_i / C_i$$

其中: A_i ——标准溶液中该物质的峰面积;

C_i ——标准溶液中该物质的浓度。

7 结果表示

浓度 c 的计算:

$$c = A_e / RF_i$$

其中, A 为样品中该物质的峰面积。

结果由g/L来表示,需考虑到样品制备过程中的稀释因子。

8 质量控制

质量、体积和温度会间接影响最后的结果。因此分析时需将外标或内标质控样插入样品中。

9 方法性能

整个方法的分析时间大约需要50 min。

受酒中某些化合物的影响:甘油和糖能在同一针样品中分离测定。已知的化合物不能和果糖、葡萄糖或蔗糖共同洗脱。

稳定性:此分析对极小的温度变化非常敏感。色谱柱需要由一个泡沫套覆盖。

9.1 检测限和定量限

$$LOD_{\text{果糖}} = 0.12 \text{ g/L}$$

$$LOD_{\text{葡萄糖}} = 0.18 \text{ g/L}$$

$$LOQ_{\text{果糖}} = 0.4 \text{ g/L}$$

$$LOQ_{\text{葡萄糖}} = 0.6 \text{ g/L}$$

见附录 A. 2。

9.2 准确度

9.2.1 重复性

由一个操作员在最短时间内使用相同装置得到一个葡萄酒样品的两个独立结果之间的绝对重复性差值不超过 5% (见附录 A. 3. 1)。

对于葡萄糖+果糖 > 5 g/L

$$RSD_r = 1\%$$

重复性限 $r = 3\% (2.8RSD_r)$

对于葡萄糖+果糖在 2 g/L 和 5 g/L 之间

$$RSD_r = 3\%$$

重复性限 $r = 8\% (2.8RSD_r)$

9.2.2 再现性

由两个实验室得到的同一个葡萄酒样品的两个独立结果之间的绝对重复性差值不超过 5% (见附录 A. 3. 2)。

对于葡萄糖+果糖 > 5 g/L。

$$RSD_R = 4\%$$

再现性限 $R = 10\% (2.8RSD_r)$

对于葡萄糖+果糖在 2 g/L 和 5 g/L 之间

$$RSD_R = 10\%$$

再现性限 $R = 30\% (2.8RSD_r)$

参 考 文 献

- [1] TUSSEAU D. et BOUNIOL Cl. (1986), Sc. Alim., 6, 559-577;
- [2] TUSSEAU D., 1996. Limite de détection-limite de quantification. Feuillet Vert OIV 1000.
- [3] Protocole de validation des méthodes d'analyse. Résolution OIV OENO 6/2000
- [4] Exactitude des résultats et méthodes de mesure. Norme NF ISO 5725



附录 A

实验室间测试结果的统计

A.1 实验室间测试的样品

这项研究是在波尔多反欺诈区域实验室完成的。测试包括由 A~J 的 12 个样品(4 个白葡萄酒、4 个红葡萄酒、2 个白波特酒和 2 个红波特酒),它们的葡萄糖和果糖含量分别在 2 g/L~65 g/L 之间。这些酒样是由波尔多地区产的葡萄酒添加葡萄糖和果糖制成的,其二氧化硫的含量稳定在 100 mg/L。

A.2 色谱条件

考虑到两种糖的响应因子和色谱峰的强度,背景噪音对应于果糖的浓度为 0.04 g/L,对应于葡萄糖的浓度为 0.06 g/L(见图 A.3)。

检测限(3 倍的噪音)和定量限(10 倍的噪音)分别为:果糖检出限为 0.12 g/L;葡萄糖检出限为 0.18 g/L;果糖定量限为 0.4 g/L;葡萄糖定量限为 0.6 g/L。

这些结果和 TUSSEAU 和 BOUNIOL(1986)的测定一致。

A.3 准确性

9 个实验室参与到这次研究中。

用给定的实验方法,成功地对 3 个浓度的标准溶液和 12 个样品进行了分析。

——5 个实验室在分析了 3 个浓度的标准溶液后给出了回归曲线。

——4 个实验室给出了 12 个样品重复 3 次的结果,其余的只给出了 1 次的结果。

所有实验室都给出了色谱条件。所有的实验室都采用了相同的方法原理和指定的相同的色谱柱型号。仅有的不同是:

——1 个实验室的进样量为 50 μ L,而不是 20 μ L。

——1 个实验室用的标准溶液浓度范围较大(5 g/L~30 g/L 每种糖)。

所有结果均是根据 OIV 检测方法的验证程序(决议 OENO 6/1999)进行分析的。此程序对检测的次数不作重复要求,而 4 个实验对检测结果作了 3 次重复。因此第一组的检测结果符合 OIV 的相关程序。

重复性是根据 Youden 进行计算的,再现性是根据 Cochran 和 Grubbs 来完成的。重复性的数据可以用来计算再现性的标准偏差(根据 ISO 5725)。

发现了一个无效的结果。根据 Cochran 测试,排除了 1 号实验室样品 C 和样品 J 的结果。Grubbs 测试显示没有需要排除的离群结果。

所有结果都列在表 A.1 中。



表 A.1 12 种样品中果糖和葡萄糖含量的分析结果

样品	A		B		C		D		E		F		G		H		I		J		K		L	
	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G	F	G
糖	5.9	2.9	9.5	10.4	68.4	56.1	13.0	10.9	5.0	2.5	2.3	2.7	10.4	12.6	13.3	12.0	64.7	43.5	75.2	68.8	65.3	45.7	2.1	2.9
	5.4	2.8	9.3	10.9	73.0	59.7	12.9	11.2	5.3	2.6	2.1	3.1	10.1	12.3	13.3	11.8	64.5	44.2	75.0	68.3	64.5	45.2	2.3	3.0
实验室 1	5.5	2.9	10.0	11.2	73.6	58.6	12.9	11.0	5.4	2.7	2.2	2.8	9.9	12.2	13.3	12.0	63.9	43.5	77.4	70.5	65.1	45.8	2.1	2.9
	5.6	2.9	9.6	10.8	71.7	58.1	12.9	11.0	5.2	2.6	2.2	2.9	10.1	12.4	13.3	11.9	64.4	43.7	75.9	69.2	65.0	45.6	2.2	2.9
实验室 2	5.1	2.4	10.0	12.6	74.5	67.0	13.4	12.3	5.0	2.2	1.5	2.2	10.0	13.0	13.4	12.3	64.2	42.9	76.8	69.3	64.4	43.4	1.4	0.4*
实验室 3	5.3	3.0	9.8	12.6	72.5	66.3	13.0	12.6	5.4	3.4	1.9	3.1	10.4	14.2	13.4	13.4	63.9	45.0	73.8	69.9	65.6	47.3	2.0	3.3
实验室 4	5.1	3.2	10.3	12.7	71.6	68.2	12.9	12.6	5.0	3.0	1.9	2.9	9.6	12.6	12.7	12.5	62.5	45.4	73.3	70.3	63.4	45.9	1.9	3.0
	5.3	3.0	9.7	12.6	74.0	69.8	12.9	12.6	5.1	2.9	1.8	3.1	10.0	12.7	13.1	13.0	63.0	46.4	74.2	70.6	62.1	46.2	1.9	2.8
实验室 5	5.2	3.2	9.5	12.5	73.1	69.7	12.8	12.7	5.2	2.9	2.0	2.9	9.7	12.7	13.1	12.8	62.6	45.7	75.0	70.9	61.8	45.3	2.0	2.8
	5.2	3.1	9.8	12.6	72.9	69.2	12.9	12.6	5.1	2.9	1.9	3.0	9.8	12.7	13.0	12.8	62.7	45.8	74.2	70.6	62.4	45.8	1.9	2.9
实验室 6	5.4	3.2	9.8	11.3	76.1	67.5	13.3	12.0	5.1	2.9	1.9	2.5	10.0	11.6	13.1	11.8	61.6	43.4	72.1	65.3	62.5	42.5	2.0	2.3
实验室 7	5.6	2.9	10.5	13.0	72.2	67.9	13.5	12.1	5.2	3.0	2.0	3.1	10.4	12.9	13.3	12.4	66.8	46.9	73.9	70.3	63.6	44.1	2.2	3.1
	5.1	2.9	9.8	13.6	72.0	65.4	13.1	12.6	5.1	3.0	1.6	3.9	9.7	13.9	13.3	12.7	61.8	42.9	71.5	65.9	61.7	43.5	1.6	3.9
实验室 8	5.1	2.8	9.7	12.4	73.7	70.0	13.0	12.7	5.1	2.9	2.0	3.0	10.1	13.0	12.8	12.6	61.6	45.6	71.7	68.6	61.6	45.5	2.1	3.3
	5.0	2.9	9.6	12.9	72.3	68.7	12.3	12.7	5.0	2.9	2.0	3.0	10.0	13.1	12.8	12.9	61.0	44.8	70.6	68.3	61.4	45.1	2.1	3.4
实验室 9	5.0	3.0	9.6	12.9	72.7	66.7	12.6	12.7	5.0	2.9	2.0	3.0	10.1	13.1	12.6	12.7	61.2	45.4	71.5	68.5	61.2	45.2	2.1	3.3
	5.0	2.9	9.6	12.7	72.9	68.5	12.6	12.7	5.0	2.9	2.0	3.0	10.1	13.1	12.7	12.7	61.3	45.3	71.3	68.5	61.4	45.3	2.1	3.3
实验室 10	4.9	2.7	9.6	12.6	72.5	69.1	12.1	12.5	5.0	2.6	2.1	2.8	9.7	12.5	12.0	12.6	55.3	44.8	72.0	69.0	57.0	45.0	2.0	2.5
	4.9	2.7	9.0	11.5	79.5	70.2	12.6	12.9	4.8	2.7	2.2	2.5	9.1	11.6	12.5	13.0	60.2	42.6	79.0	70.2	60.3	43.0	2.2	2.5
实验室 11	5.1	2.6	9.3	12.2	77.5	63.0	12.3	12.0	4.9	2.6	1.9	3.1	9.4	12.1	12.5	12.2	60.9	43.6	77.0	74.1	61.2	43.2	1.9	3.0
	5.0	2.7	9.3	12.1	76.5	67.4	12.3	12.5	4.9	2.6	2.1	2.8	9.4	12.1	12.3	12.6	58.8	43.7	76.0	71.1	59.5	43.7	2.0	2.7

* 无效的结果。



4 个给出 3 次平行结果的实验室,它们的平均值用粗体表示。

糖:F 果糖,G 葡萄糖。

全部的结果用葡萄糖+果糖形式表示,见表 A. 2。

4 个给出 3 次平行结果的实验室,只采用第一行的数据。

第一列为做双样的样品,其结果分别对应应在后面的列中。

表 A. 2 6 个重复样品中葡萄糖+果糖含量的结果(以 g/L 计)

编号	实验室 1	实验室 2	实验室 3	实验室 4	实验室 5	实验室 6	实验室 7	实验室 8	实验室 9
A/E	8.8 7.5	7.5 7.2	8.3 8.8	8.3 8	8.6 8	8.5 8.2	8 8.1	7.9 8	7.6 7.6
B/G	20.3 23	22.6 23	22.4 24.6	23 22.2	21.1 21.6	23.5 23.3	23.4 23.6	22.1 23.1	22.2 22.2
C/J	125 144	142 146	139 144	140 144	144 137	140 144	137 137	144 140	142 141
D/H	23.9 25.3	25.7 25.7	25.6 26.8	25.5 25.2	25.3 24.9	25.6 25.7	25.7 26	25.7 25.4	24.6 24.6
F/I	5 5	3.8 1.8 ^a	5 4.6	4.8 4.9	4.9 4.3	5.1 5.3	5.5 5.5	5 5.4	4.9 4.5
I/K	108 111	107 108	109 113	108 109	105 105	114 108	105 105	107 107	100 102

^a无效的结果(色谱峰积分错误)。
注:实验室 1 的样品 C/J 没有被计算在表 A. 2 中。

A. 3. 1 葡萄糖和果糖检测结果的重复性

检测结果的重复性由以下两个方法来进行判定:

对于 4 个实验室 12 个样品有重复结果的(重复测试-TD),只取前两次的结果进行计算。

$$S_r ED = \sqrt{(\sum d_i^2)/2n}$$

其中 d_i 是每个实验室同一个样品的前两次重复分析结果的差值,而 n 是结果被列入考虑范围的实验室的数量。

RSD_r ED(%)是标准偏差与平均值之间的百分比变化系数。

重复性限值 $r=2.8 S_r ED$

用同一样品进行盲样测试重复分析(Youden pair-YP)

$$S_r = \sqrt{(\sum d_i^2)/2(n-1)}$$

其中, d_i 是同一个实验室对两个样品做盲样分析结果的差值(例如:实验室 3 样品 A 和 E 的结果差值)。

详见表 A. 3 和图 A. 4。

表 A. 3 重复性结果

样品	F	L	A	E	B	G	D	H	I	K	C	J
葡萄糖+果糖含量的平均值/(g/L)	4.9	4.6	8.2	7.9	22.3	23.0	25.3	25.5	107	107	141	142
$S_r ED/(g/L)$	0.04	0.05	0.08	0.05	0.24	0.21	0.14	0.17	0.43	0.27	1.56	1.05
$r ED/(g/L)$	0.11	0.14	0.22	0.14	0.67	0.59	0.39	0.48	1.20	0.76	4.4	2.9

表 A. 3(续)

样品	F	L	A	E	B	G	D	H	I	K	C	J
RSD _r ED/%	0.8	1.1	0.9	0.7	1.1	0.9	0.6	0.6	0.4	0.3	1.7	0.7
S _r PY/(g/L)	0.14	0.10	0.24	0.12	0.50	0.80						
r PY/(g/L)	0.39	0.28	0.67	0.34	1.4	2.2						
RSD _r PY/%	2.5	1.3	1.0	0.5	0.5	0.6						

根据两个估计方法,重复性的值是偏低并且连贯的。

A.3.2 葡萄糖和果糖检测结果的再现性

通常地,用一个质控样来进行内部质量控制(例如:TITRIVINS-DUJARDIN SALLERON)。用分析结果的标准偏差来判断再现性(每年进行更新)。

SR 实验室内部=0.5 g/L 葡萄糖+果糖含量等于 12 g/L。

表 A. 4 是这次检测结果的内部比较试验的再现性。OIV 决议中采用 SL 来推断实验室的影响。

表 A. 4 再现性结果和实验室影响

样品	F	L	A	E	B	G	D	H	I	K	C	J
葡萄糖+果糖含量的平均值/(g/L)	4.9	4.6	8.2	7.9	22.3	23.0	25.3	25.5	107	107	141	142
SR _{室内} /(g/L)	0.5	0.4	0.4	0.4	1.0	1.0	0.6	0.6	3.2	2.9	2.2	3.2
SL/(g/L)	0.43		0.39		0.97		0.59		3.0		2.6	
R _{室内} /(g/L)	1.3		1.12		2.8		1.7		8.5		7.6	
RSD R _{室内} /%	9.5		5		4.4		2.4		2.9		1.9	

图 A. 4 概括了标准偏差的再现性结果。

重复性的结果变化较小,这说明实验室效应是使检测结果离散的主要原因。因此可以推测出较长的时间里,实验室内的再现性和再现性应该趋于相同。

在图 A. 4 中,重复性曲线在整个研究区域中相对平稳(5 g/L~150 g/L 葡萄糖+果糖),但再现性在低浓度时相对偏高。

总体上来说,重复性(*r* 重复性限值)相对保持在 1%,而再现性限值(*r*)在 2%~5%;当葡萄糖+果糖含量在 5 g/L 时,再现性则在 10%。

对于葡萄糖+果糖 > 5 g/L

$$RSD_r = 1\%$$

$$RSD_R = 4\%$$

$$\text{重复性限 } r = 3\% (2.8 RSD_r)$$

$$\text{再现性限 } R = 10\% (2.8 RSD_r)$$

对于葡萄糖+果糖在 2 g/L~5 g/L 之间

$$RSD_r = 3\%$$

$$RSD_R = 10\%$$



重复性限 $r=8\%$ (2.8 RSD_r)

再现性限 $R=30\%$ (2.8 RSD_R)

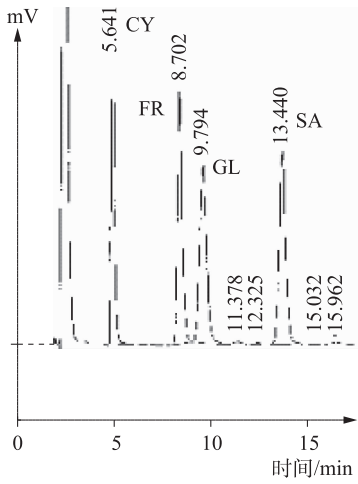


图 A.1 标准溶液的色谱图
(糖和甘油都是 10 g/L)

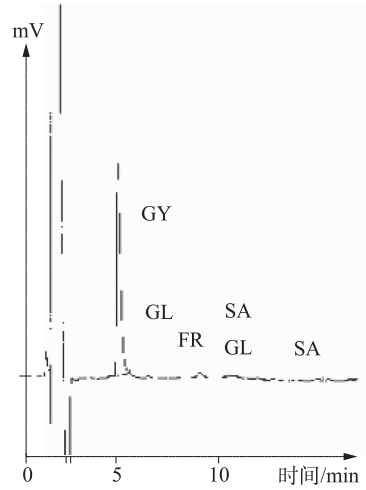


图 A.2 玫瑰葡萄酒的色谱图

甘油(GY)、果糖(FR)、葡萄糖(GL)、蔗糖(SA)

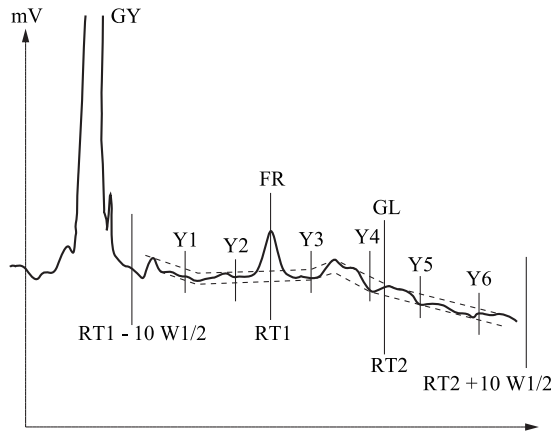


图 A.3 放大色谱图后测定背景噪音的程度

果糖(FR)、葡萄糖(GL)、蔗糖(SA)、甘油(GY)

RT1:果糖的保留时间;RT2:葡萄糖的保留时间;W1/2:中间高度的峰宽;Y_i:背景噪音在 i 时间的程度。

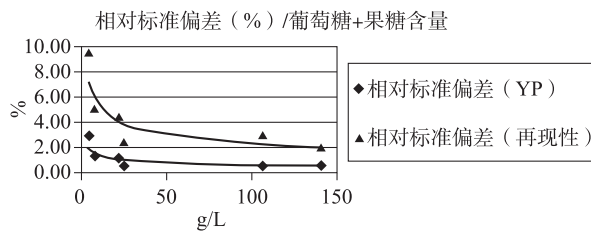


图 A.4 根据葡萄糖+果糖含量表示的标准偏差

稳定葡萄汁法测定添加蔗糖

1 方法原理

用氢氧化钠溶液将试样调节到 pH 等于 7, 并添加与试样等体积的丙酮。蒸馏去除丙酮, 用薄层色谱法(TLC)和高效液相色谱法(HPLC)对蔗糖进行测定(见蔗糖章节)。

2 仪器

带有 100 mL 蒸馏烧瓶的蒸馏装置。

3 试剂

3.1 20 g/mL 的氢氧化钠溶液。

3.2 丙酮。

4 方法

4.1 试样的稳定性处理

将 20 mL 葡萄汁置于 100 mL 耐压烧瓶中, 用 20 g/mL 的氢氧化钠溶液(6~12 滴)将葡萄汁调节到 pH 等于 7, 加入 20 mL 丙酮, 封住瓶口, 低温保存。

4.2 薄层色谱或高效液相色谱法所用试样的制备

将烧瓶内的试样转入 100 mL 蒸馏烧瓶中, 进行蒸馏, 收集约 20 mL 蒸馏液后弃去。再向蒸馏烧瓶中加入 20 mL 水, 重新蒸馏, 再次收集约 25 mL 蒸馏液后弃去。

将蒸馏烧瓶中的残液转移入 20 mL 容量瓶中, 加水至刻度。过滤, 滤液用于薄层色谱法或高效液相色谱法进行蔗糖的定性或定量测定。

参考文献

[1] TERCERO C., F. V., O. I. V., 1972, No. 420 and 421.



核磁共振法(SNIF-NMR/RMN-FINS)测定葡萄汁、 浓缩葡萄汁、精馏浓缩葡萄汁以及葡萄酒中的糖 分发酵产生的乙醇中氘的分布情况

(决议 Oeno 426-2011)

1 简介

在葡萄汁中的糖分和水分中所含的氘原子在发酵之后被重新分配到葡萄酒的分子 I、II、III 和 IV 中。



2 范围

该方法可以测定葡萄酒中的乙醇以及由葡萄汁(葡萄汁、浓缩葡萄汁、精馏浓缩葡萄汁)发酵得到的乙醇中的氘同位素比(D/H)。

3 定义

$(D/H)_I$: 分子 I 的同位素比

$(D/H)_{II}$: 分子 II 的同位素比

$(D/H)_W$: 葡萄酒(或发酵类产品)中水的同位素比

$$R = 2(D/H)_{II} / (D/H)_I$$

R 表示氘在分子 I 和分子 II 中的相对分布; R 可通过 $R = 3h_{II} / h_I$ 来计算, h 表示峰高。

4 原理

以上所定义的几种参数 R 、 $(D/H)_I$ 和 $(D/H)_{II}$ 是通过葡萄酒或葡萄汁、浓缩葡萄汁以及精馏浓缩葡萄汁在给定条件下发酵后的产物中的乙醇进行氘的核磁共振检测得到的。

5 试剂与材料

5.1 试剂

5.1.1 按照卡尔费氏方法测水分所用的试剂(该方法也用来测定蒸馏液中的酒精度)。

5.1.2 六氟苯(C_6F_6)用作锁场物质。

5.1.3 三氟乙酸(TFA, CAS: 76-05-1)或三氟乙酸酐(TFAA, CAS: 407-25-0)。

5.2 标准物质(从基尔(B)的欧共体标准物质参考局(IRMM)购得)

5.2.1 CRM-123 NMR 标准品, 用来校准核磁共振波谱仪。

5.2.2 N, N -四甲基脲(TMU)标准品(通过 D/H 同位素比的校准)。

5.2.3 其余可用来测定馏出液的有证标准物(CRM)及其准备步骤:



表 1

CRM		参数	标准值	不确定度
CRM-656	葡萄酒中的乙醇, 96% vol.	t^D (乙醇)/%	94.61	0.05
		$\delta^{13}C$ (乙醇)/‰ VPDB	-26.91	0.07
		(D/H) _I (乙醇)/ppm	102.84	0.20
		(D/H) _{II} (乙醇)/ppm	132.07	0.30
		R (乙醇)	2.570	0.005
CRM-660	乙醇水溶液, 12% vol.	t^Q (乙醇)/%	11.96	0.06
		$\delta^{13}C$ (乙醇)/‰ VPDB	-26.72	0.09
		(D/H) _I (乙醇)/ppm	102.90	0.16
		(D/H) _{II} (乙醇)/ppm	131.95	0.23
		R	2.567	0.005
		(D/H) _w (水)/ppm	148.68	0.14

5.3 仪器

5.3.1 NMR(核磁共振)测定仪, 配可检测“氘”的探头, 与磁场强度 B_0 的特有频率 ν_0 相配合(例如 $B_0=7.05T, \nu_0=46.05\text{ MHz}$ 或 $B_0=9.4T, \nu_0=61.4\text{ MHz}$), 具有质子(B_2)的去耦通道和氟的锁场通道。NMR 测定仪可以安装自动样品转换器和附加的数据处理软件来评价光谱和计算结果。NMR 波谱仪的性能可以用有证参考物质(CRM123)来验证。

5.3.2 10 mm 核磁样品管。

5.3.3 蒸馏装置: 图 1 中的 Cadiot 柱就是一个手动蒸馏系统的例子, 它能从葡萄酒中提取 96%~98.5% 没有同位素分馏的乙醇, 并且得到酒精质量浓度为 92%~93%(95% vol.) 的馏出物。

注: 可以使用任何乙醇抽提装置, 但要确保从葡萄酒中提取的酒精没有同位素分馏。

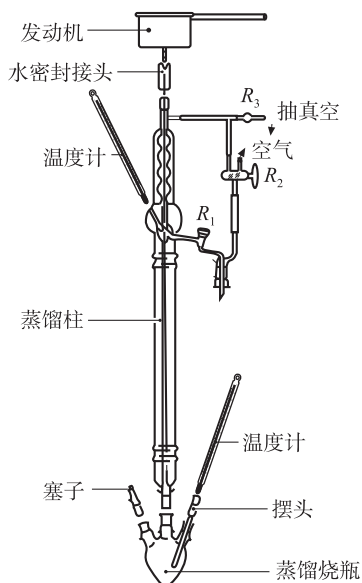


图 1 乙醇抽提装置



这个系统由以下几部分组成：

- 电热套,带压力调节器；
- 1 L 的圆底磨口烧瓶；
- 可旋转的 Cadiot 柱(可转动的部分为聚四氟乙烯材料)；
- 磨口锥形瓶,用来收集蒸馏的产物。

也可以使用自动蒸馏系统。

蒸馏系统的性能需要定期进行检查,以确保提取的效率和同位素的检测的准确性。这可以通过蒸馏和测定 CRM-660 来完成。

5.3.4 实验室常用设备和消耗品：

微量移液器和枪头；

精度为 0.1 mg 或更高的天平；

精度为 0.1 g 或更高的天平；

一次性注射器；

带有准确刻度的烧瓶(50 mL,100 mL,250 mL……)；

配备气密系统和惰性隔垫的烧瓶(测量前用来储存葡萄酒、馏出液和残留物)；

其他方法中提到的设备和消耗品。

6 样品的制备

6.1 在不知道酒精度的情况下,需要检测葡萄酒或发酵产物(t_v)的酒精浓度,至少精确至 0.05% vol(可使用 OIV 方法 MA-F-AS312-01-TALVOL)。

6.2 乙醇的提取:用带刻度的烧瓶量取适当体积 V (mL)的葡萄酒或发酵产物,倒入蒸馏装置的圆底烧瓶中。用平底锥形瓶来接收馏出液。加热样品对其进行蒸馏,使冷凝器达到一个恒定的回流比。当特定的乙醇-水共沸时蒸汽达到恒定温度(78°C)时,开始收集馏出液;当温度上升时,则停止收集。收集所有乙醇-水共沸时的馏出液。

当使用手动 Cadiot 柱(图 1)时,请遵循以下步骤:

收集乙醇-水共沸时的馏出液,当温度上升时,停止收集 5 min。当温度降至 78°C 时,重新收集馏出液直到蒸汽的温度再次上升。重复这一操作,直到温度不再回到 78°C,停止收集馏出液。

也可使用市售的自动蒸馏系统来完成这一步骤。

称取收集的馏出液质量 m_D ,精确到 0.1 g。

为了防止同位素分馏,馏出液需被保存在一个密封的玻璃瓶中,以防止在测定酒精度(6.3)和制备 NMR 测试管(7.1)前蒸发。

保存少量的残留物(几毫升),需要时可测定它的同位素比(D/H) $_{\text{w}}$ 。

6.3 馏出物酒精度的测定:馏出物酒精度($m/m, \%$)的测定精度需高于 0.1%。

馏出物(p' g)的含水量可用卡尔费氏方法测定,用 0.5 mL 已知酒精质量(p g)的样品来测定。馏出物酒精度可由馏出物的质量用下式计算:

$$t_{m}^D(m/m) = 100(1 - p')/p$$

酒精度也可用密度计(如电子密度仪)来测定。



6.4 蒸馏效率

馏出液的产率可由下式推断:

$$\text{馏出液的产率(\%)} = 100 t_{\text{m}}^{\text{D}} m_{\text{D}} / (V \cdot t_{\text{V}})$$

根据不确定度 t_{V} , 馏出物的产率预计在 $\pm 0.5\%$ [酒精度为 10% (V/V) 的葡萄酒]。

在使用 Cadiot 柱蒸馏时, 当产率高于 96% 时, 不会有显著的同位素分馏效应。为保证足够的蒸馏产率, 一般需量取足够体积 V mL 的葡萄酒或发酵产物来进行蒸馏。对常见的每份 750 mL、500 mL、400 mL 或 300 mL 的葡萄酒或发酵产物, 蒸馏产率达到 96% 以上, 其相对应的 t_{V} 分别为 4% vol、 6% vol、 8% vol 和 10% vol。

6.5 发酵葡萄汁、浓缩葡萄汁和精馏浓缩葡萄汁

在使用之前, 可先将酵母用少量葡萄汁进行活化。发酵容器需要装上密闭装置来防止乙醇的损失。

6.5.1 葡萄汁

将 1 L 葡萄汁放入一个供发酵的容器中, 葡萄汁中可发酵糖分的浓度已预先测定。加入 1 g 经预先活化处理过的干酵母, 装上空气隔绝装置进行发酵, 直到糖分全部被发酵为止。发酵产物经上述葡萄酒蒸馏步骤 (6.1~6.4) 进行蒸馏。

注: 经二氧化硫抑制发酵的葡萄汁需经过脱硫处理, 方法是葡萄汁置于 $70^{\circ}\text{C} \sim 80^{\circ}\text{C}$ 的水浴中在回流条件下, 进行吹氮, 注意防止水蒸发而导致的同位素分馏。或者, 通过加入少量过氧化氢 (H_2O_2) 来去除二氧化硫。

6.5.2 浓缩葡萄汁

将体积为 V mL, 已知含糖量 (170 g) 的浓缩葡萄汁移入发酵容器中, 再添加 $(1000 - V)$ mL 的水, 使总容积达 1 L。加入 1 g 干酵母和 3 g 不含氨基酸的 Bacto 酵母氮基。均质后按 6.5.1 的步骤操作。

6.5.3 精馏浓缩葡萄汁

按照 6.5.2 的步骤, 加入 $(1000 - V)$ mL 溶有 3 g 酒石酸的水, 使容积达 1 L。

注: 浓缩葡萄汁和精馏浓缩葡萄汁测定时, 需要加入与原始葡萄汁不同 (D/H) 比的当地水进行稀释。通常情况下, 认为葡萄汁和发酵用的水有相同的氘浓度如 V-SMOW (155.76 ppm), 则乙醇中测到的 $(D/H)_{\text{I}}$ 和 $(D/H)_{\text{II}}$ 参数应为常量。

可用以下的公式对其进行计算 (Martin et al., 1996, J. AOAC, 79, 62-72):

$$\begin{aligned} \left(\frac{D}{H}\right)_{\text{I}}^{\text{Norm. V-SMOW}} &= \left(\frac{D}{H}\right)_{\text{I}} - 0.19 \times \left[\left(\frac{D}{H}\right)_{\text{w}}^{\text{S}} - 155.76\right] \\ \left(\frac{D}{H}\right)_{\text{II}}^{\text{Norm. V-SMOW}} &= \left(\frac{D}{H}\right)_{\text{II}} - 0.78 \times \left[\left(\frac{D}{H}\right)_{\text{w}}^{\text{S}} - 155.76\right] \end{aligned}$$

其中 $\frac{D}{H}$ 是被稀释葡萄汁的氘同位素比, 这个数值可以通过全球大气水线公式来计算 (Craig, 1961):

$$\left(\frac{D}{H}\right)_{\text{w}}^{\text{S}} = 155.76 \times \left[\frac{8 \times \delta^{18}\text{O} + 10}{1000} + 1\right]$$

其中 $\delta^{18}\text{O}$ 是根据葡萄酒和葡萄汁中水的 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 同位素比的方法 [OIV-MA-AS2-12] 测定稀释的葡萄汁得到的。

保留 50 mL 葡萄汁或经二氧化硫处理的葡萄汁或浓缩葡萄汁或精馏浓缩葡萄汁作为试



样,以备测定水的含量以及同位素比(D/H) $_{\text{w}}$ 。

7 步骤

7.1 制备供 NMR 测定的酒精样品

10 mm 直径的核磁共振探头:在一个已称重的烧杯中,吸取 3.2 mL 馏出液(6.2),称重(m_A),精确到 0.1 mg;然后再吸取 1.3 mL 内标物 TMU(5.2.2),称重(m_{ST}),精确到 0.1 mg。

根据所使用光谱仪和探头的类型,加入足够量的六氟苯(5.1.2)作为锁场试剂:

光谱仪	10 mm 探头
7.05T	150 μL
9.4T	35 μL

这些数据仅作参考,实际的用量需根据 NMR 的灵敏度来调整。在准备核磁管直到 NMR 测定前,一定要注意避免乙醇和 TMU 的蒸发。因为这可能导致同位素分馏,从而导致各成分称重(m_A 和 m_{ST})和 NMR 结果错误。

可以使用 CRM-656 来验证检测结果和制备步骤的准确性。

注:六氟苯中可加入 10%(V/V)的三氟乙酸(5.1.3)来催化羟基键上的快速氢交换,从而产生羟基和残留水的 NMR 信号峰。

7.2 记录乙醇的 ^2H 核磁共振谱

样品中磁场 B_0 的均匀性通过“匀场”步骤来完成,通过观察使六氟苯中 ^{19}F NMR 最大化锁定信号进行优化。现代 NMR 光谱仪能自动完成“匀场”步骤,可以对按 7.1 制备的乙醇样品,提供初始最接近优化的均匀的磁场。这个步骤的有效性可以通过检查不使用指数倍增而得到谱图的分辨率来完成[如:LB=0,图 2b)],理想状态下,乙醇中甲基、亚甲基以及 TMU 中甲基信号半峰宽的必须小于 0.5 Hz。使用指数倍增处理[LB=2,图 2a)],对于 95% vol(质量分数为 93.5%)的酒精样品,其甲基信号灵敏度应高于或等于 150。

检查仪器设置:

根据说明书,完成常规的均匀性和灵敏度校准。

使用密封的 CRM123 试管(H:高,M:中,L:低)。

根据 7.3 中的步骤,测定这些酒精的同位素值,标以 $H_{\text{meas}}, M_{\text{meas}}, L_{\text{meas}}$ 。

比较相应的参考值,标以 $H_{\text{st}}, M_{\text{st}}, L_{\text{st}}$ 。

每个谱重复 10 次测试所得到的标准偏差 R 应低于 0.01, $(D/H)_{\text{I}}$ 为 0.5 ppm, $(D/H)_{\text{II}}$ 为 1 ppm。

各个同位素参数[$R, (D/H)_{\text{I}}, (D/H)_{\text{II}}$]的平均值应处在 CRM123 相应参数的重复性标准偏差范围内。如果达不到要求,则应再进行调整。

优化完成参数设置后,可使用其他 CRM 材料对日常检测进行质量监控。

7.3 确定核磁共振波谱的条件

将 7.1 中所制备的乙醇试样置于 10 mm 核磁试管中,放进探头处。

建议条件如下:

——恒定的探头温度,根据去耦合产生的加热功率,设置温度变化范围在 302 K~306 K,



温度变化在±0.5 K 内;

——对于 1200 Hz 的波谱宽度(存储 16 K)下,其采集时间至少为 6.8 s(即在 61.4 MHz 为 20 ppm 或在 46.1 MHz 为 27 ppm);

——90°脉冲;

——抛物线探测:参照乙醇的信号,调整补偿 01 在 OD 和 CHD 之间;参照水的信号,调整补偿 01 在 HOD 和 TMU 之间;

——通过同一根核磁管上的解耦线圈所测得的质子谱,可以测定去耦补偿 02 的值。当 02 处在 CH₃ 和 CH₂ 频率间隔的中位时,就能得到好的去耦效果。使用宽带去耦或复合脉冲序列(例如 WALTZ16)以确保去耦的均匀性。

每个谱均需作一定次数的 NS 累加,才能使信噪比达到 7.2 的要求,重复 NE 次累积。NS 的值与核磁共振仪的类型以及所用探头的类型有关。例如:

质谱仪	10mm 探头
7.05T	NS=304
9.4T	NS=200

NE 的重复次数应有统计学意义并且满足该方法的精密度,见第 9 部分。

取两个按照 7.1 步骤进行制备的 NMR 样品管,每个管记录 5 次重复测试的 NMR 谱 (NE=5)。各同位素参数的最终结果与两个 NMR 样品管测得的平均值相对应。此时,对两个样品管测试结果的评价标准是:

$$|Mes1(D/H)_I - Mes2(D/H)_I| < 0.5 \text{ ppm}, |Mes1(D/H)_{II} - Mes2(D/H)_{II}| < 0.8 \text{ ppm}$$

8 结果表示

对于每一个 NE 波谱(见乙醇的 NMR 光谱,图 2a)

$$R = 3 \cdot \frac{h_{II}}{h_I} = 3 \cdot \frac{\text{信号高度 II (CH}_3 \text{ CH}_D \text{ OH)}}{\text{信号高度 I (CH}_2 \text{D CH}_2 \text{ OH)}}$$

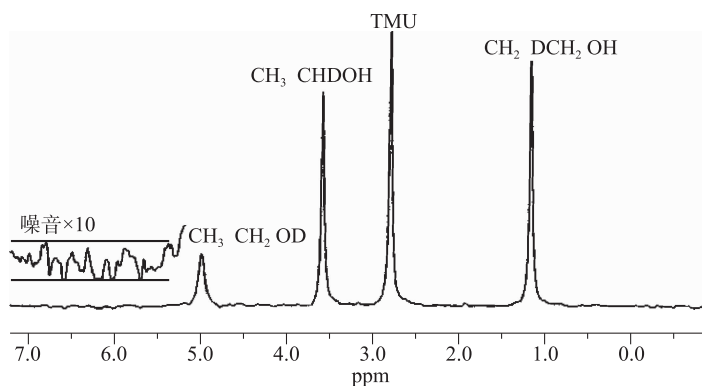


图 2a) 葡萄酒中乙醇的²H NMR(内标 TMU: N,N-四甲基脒)

$$(D/H)_I = 1.5866 \cdot T_I \cdot \frac{m_{ST}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{ST}}{t_m^D}$$

$$(D/H)_{II} = 2.3799 \cdot T_{II} \cdot \frac{m_{ST}}{m_A} \cdot \frac{(D/H)_{ST}}{t_m^D}$$



其中

$$T_I = \frac{\text{信号高度 I (CH}_2\text{D CH}_2\text{ OH)}}{\text{内标信号高度(TMU)}}$$

$$T_{II} = \frac{\text{信号高度 II (CH}_3\text{ CHD OH)}}{\text{内标信号高度(TMU)}}$$

—— m_{ST} 和 m_A 见 7.1;

—— t_D^m 见 6.3;

—— $(D/H)_{ST}$ = 内标(TMU)的同位素比,由欧共体参考标准局提供。

假设半峰宽是确定的并且有合理的近似值,用信号的高度来代替信号的峰面积计算,计算的精密度较低[图 2b)]。

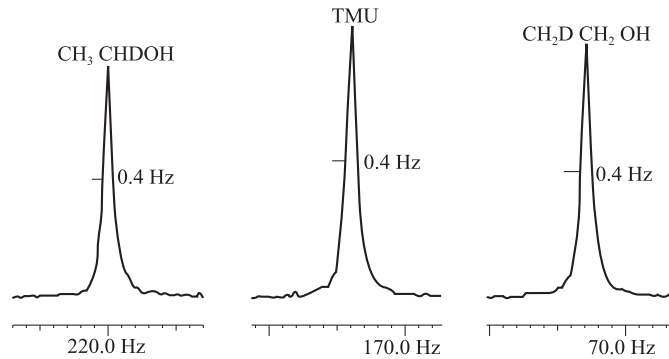


图 2b) 乙醇的²H-NMR(未经指数倍增)($LB=0$)

通过对一个指定样品的多次测量,来计算每一个同位素参数的平均值和置信区间。

9 精密度

SNIF-NMR 方法重复性和再现性研究,是通过果汁的联合比对实验研究完成的,已经列在参考文献中。由于这些研究只考虑了 $(D/H)_I$ 参数。因此,采用了多个实验室提供的内部葡萄酒研究数据,来进行重复性的标准偏差和重复性限值的研究,见附录 A。附录 B 中能力验证结果提供的数据可用于计算葡萄酒的再现性的标准偏差和再现性限值。

总结如下:

	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R
S_r	0.26	0.30	0.005
r	0.72	0.84	0.015
S_R	0.35	0.62	0.006
R	0.99	1.75	0.017

其中: S_r 为重复性标准偏差;

r 为重复性限值;

S_R 为再现性标准偏差;

R 为再现性限值。



附录 A 内部重复性研究评价

采用 4 个实验室提供的内部实验数据,来进行 SNIF-NMR 方法重复性的评价研究。

实验室 1、实验室 2 和实验室 3 分别完成了 10 个、9 个和 15 个不同葡萄酒样品蒸馏和测定的平行分析。

实验室 4 完成了短期内对同一个葡萄酒样品 16 次蒸馏和重复的测定。

表 A.1 实验室 1:10 个葡萄酒样品的平行分析结果

样品	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R	$(D/H)_I$ 差值	差值平方	$(D/H)_{II}$ 差值	差值平方	R 差值	差值平方
1	103.97	130.11	2.503	0.55	0.302	0.68	0.462	0.000	0.000 00
	104.52	130.79	2.503						
2	103.53	130.89	2.529	0.41	0.168	0.32	0.102	0.016	0.000 26
	103.94	130.57	2.513						
3	102.72	130.00	2.531	0.32	0.102	0.20	0.040	0.004	0.000 02
	103.04	130.20	2.527						
4	105.38	132.39	2.513	0.14	0.020	0.20	0.040	0.000	0.000 00
	105.52	132.59	2.513						
5	101.59	127.94	2.519	0.48	0.230	0.20	0.040	0.016	0.000 26
	101.11	128.14	2.535						
6	103.23	132.14	2.560	0.30	0.090	0.36	0.130	0.001	0.000 00
	102.93	131.78	2.561						
7	103.68	130.95	2.526	0.15	0.023	0.75	0.563	0.011	0.000 12
	103.53	130.20	2.515						
8	101.76	128.86	2.533	0.24	0.058	0.42	0.176	0.003	0.000 01
	101.52	128.44	2.530						
9	103.05	129.59	2.515	0.04	0.002	0.44	0.194	0.007	0.000 05
	103.01	129.15	2.508						
10	101.47	132.63	2.614	0.50	0.250	0.18	0.032	0.010	0.000 10
	100.97	132.45	2.624						
				差值平方和	1.245		1.779		0.000 81
				S_r	0.25		0.30		0.006
				r	0.71		0.84		0.018

表 A.2 实验室 2:9 个葡萄酒样品的平行分析结果

样品	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R	$(D/H)_I$ 差值	差值平方	$(D/H)_{II}$ 差值	差值平方	R 差值	差值平方
1	105.02	133.78	2.548	0.26	0.068	0.10	0.010	0.008	0.000 07
	104.76	133.88	2.556						
2	102.38	130.00	2.540	0.73	0.533	0.40	0.160	0.010	0.000 11
	101.65	129.60	2.550						
3	100.26	126.08	2.515	0.84	0.706	0.64	0.410	0.008	0.000 07
	99.42	125.44	2.523						
4	101.17	128.83	2.547	0.51	0.260	0.45	0.203	0.004	0.000 02
	100.66	128.38	2.551						
5	101.47	128.78	2.538	0.00	0.000	0.26	0.068	0.005	0.000 03
	101.47	128.52	2.533						
6	106.14	134.37	2.532	0.12	0.014	0.04	0.002	0.002	0.000 00
	106.26	134.41	2.530						
7	103.62	130.55	2.520	0.05	0.003	0.11	0.012	0.003	0.000 01
	103.57	130.66	2.523						
8	103.66	129.88	2.506	0.28	0.078	0.55	0.302	0.004	0.000 01
	103.38	129.33	2.502						
9	103.50	129.66	2.506	0.43	0.185	0.22	0.048	0.015	0.000 21
	103.93	129.44	2.491						
				差值平方和	1.846		1.214		0.000 53
				S_r	0.32		0.26		0.005
				r	0.91		0.74		0.015

表 A.3 实验室 3:15 个葡萄酒样品的平行分析结果

样品	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R	$(D/H)_I$ 差值	差值平方	$(D/H)_{II}$ 差值	差值平方	R 差值	差值平方
1	101.63	125.87	2.477	0.06	0.004	0.46	0.212	0.007	0.000 05
	101.57	125.41	2.470						
2	99.24	124.41	2.507	0.05	0.002	0.04	0.002	0.001	0.000 00
	99.19	124.37	2.508						
3	101.23	125.07	2.471	0.06	0.004	0.16	0.026	0.005	0.000 02
	101.17	125.23	2.476						
4	100.71	125.29	2.488	0.07	0.005	1.16	1.346	0.024	0.000 58
	100.78	124.13	2.464						



表 A. 3(续)

样品	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R	$(D/H)_I$ 差值	差值平方	$(D/H)_{II}$ 差值	差值平方	R 差值	差值平方
5	99.89	124.02	2.483	0.18	0.032	0.56	0.314	0.007	0.000 05
	99.71	123.46	2.476						
6	100.60	124.14	2.468	0.19	0.036	0.66	0.436	0.018	0.000 32
	100.41	124.80	2.486						
7	101.47	125.60	2.476	0.23	0.053	0.14	0.020	0.003	0.000 01
	101.70	125.74	2.473						
8	102.02	124.00	2.431	0.13	0.017	0.07	0.005	0.005	0.000 02
	102.15	123.93	2.426						
9	99.69	124.60	2.500	0.40	0.160	0.53	0.281	0.000	0.000 00
	100.09	125.13	2.500						
10	99.17	123.71	2.495	0.30	0.090	0.19	0.036	0.004	0.000 02
	99.47	123.90	2.491						
11	100.60	123.89	2.463	0.40	0.160	0.54	0.292	0.001	0.000 00
	101.00	124.43	2.464						
12	99.38	124.88	2.513	0.33	0.109	0.55	0.302	0.002	0.000 00
	99.05	124.33	2.511						
13	99.51	125.24	2.517	0.44	0.194	0.01	0.000	0.011	0.000 12
	99.95	125.25	2.506						
15	101.34	124.68	2.460	0.43	0.185	0.41	0.168	0.002	0.000 00
	101.77	125.09	2.458						
				差值平方和	1.050		3.437		0.001 20
				S_r	0.19		0.34		0.006
				r	0.53		0.96		0.018

表 A. 4 实验室 4: 一个葡萄酒样品的 16 次分析结果

重复测量次数 n	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R
1	101.38	126.87	2.503
2	101.30	126.22	2.492
3	100.98	125.86	2.493
4	100.94	126.00	2.497
5	100.71	125.79	2.498
6	100.95	126.05	2.497



表 A. 4(续)

重复测量次数 n	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R
7	101.17	126.30	2.497
8	101.22	126.22	2.494
9	100.99	125.91	2.494
10	101.29	126.24	2.493
11	100.78	126.07	2.502
12	100.65	125.65	2.497
13	101.01	126.17	2.498
14	100.89	126.05	2.499
15	101.66	126.52	2.489
16	100.98	126.11	2.498
方差	0.0703	0.0840	0.000 013
S_r	0.27	0.29	0.004
r	0.75	0.82	0.010

数据统计后重复性标准偏差和限值可以估算为：

	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R
S_r	0.26	0.30	0.005
重复性限 r	0.72	0.84	0.015

内部重复性研究数据由以下单位提供：(按字母顺序)

——Bundesinstitut für Risikobewertung,

Thielallee 88-92 PF 330013 D-14195 柏林-德国

——Fondazione E. Mach-Istituto Agrario di San Michele all'Adige,

Via E. Mach,1-38010 San Michele all'Adige(TN),意大利

——Joint Research Centre-Institute for Health and Consumer Protection,

I-21020 ISPRA(VA)-意大利

——Laboratorio Arbitral Agroalimentario, Carretera de la Coruña, km 10,7

E-28023 MADRID-西班牙



附录 B 再现性研究

1994 年到 2010 年间多个实验室对不同类型(红、白、玫瑰、干、甜和气泡)葡萄酒的 40 次能力测试结果总结于表 B.1。

对 $(D/H)_I$ 和 $(D/H)_{II}$, 合并的 S_R 可以用以下公式来计算:

$$\sqrt{\frac{\sum_i^K (N_i - 1) S_{R,i}^2}{\sum_i^K (N_i - 1)}}$$

其中 N_i 和 $S_{R,i}$ 是第 i 次中再现性的标准偏差, K 是次数。

根据 R 的定义, 运用标准误差传递规则假设 $(D/H)_I$ 和 $(D/H)_{II}$ 为不相关(协方差为零), 对此参数的再现性标准偏差进行评价。

计算结果如下:

	$(D/H)_I$	$(D/H)_{II}$	R
S_R	0.35	0.62	0.006
R	0.99	1.75	0.01

表 B.1 FIT 能力测试——葡萄酒样品的统计学结果汇总

样品	年份	循环	$(D/H)_I$			$(D/H)_{II}$		
			N	平均数	S_R	N	平均数	S_R
红葡萄酒	1994	R1	10	102.50	0.362	10	130.72	0.33
玫瑰葡萄酒	1995	R1	10	102.27	0.333	10	128.61	0.35
红葡萄酒	1995	R2	11	101.45	0.389	11	127.00	0.55
红葡萄酒	1996	R1	11	101.57	0.289	11	132.23	0.34
玫瑰葡萄酒	1996	R2	12	102.81	0.322	12	128.20	0.60
白葡萄酒	1996	R3	15	103.42	0.362	15	127.97	0.51
红葡萄酒	1996	R4	15	102.02	0.377	13	131.28	0.30
玫瑰葡萄酒	1997	R1	16	103.36	0.247	16	126.33	0.44
白葡萄酒	1997	R2	16	103.42	0.444	15	127.96	0.53
甜白葡萄酒	1997	R2	14	99.16	0.419	15	130.02	0.88
葡萄酒	1997	R3	13	101.87	0.258	15	132.03	0.61
甜葡萄酒	1997	R3	12	102.66	0.214	12	128.48	0.48
玫瑰葡萄酒	1997	R4	16	102.29	0.324	16	129.29	0.63
甜葡萄酒	1997	R4	15	102.04	0.269	13	131.27	0.30
白葡萄酒	1998	R1	16	105.15	0.302	16	127.59	0.59

表 B.1(续)

样品	年份	循环	$(D/H)_I$			$(D/H)_{II}$		
			N	平均数	S_R	N	平均数	S_R
甜葡萄酒	1998	R3	16	102.17	0.326	16	129.60	0.56
红葡萄酒	1998	R4	17	102.44	0.306	17	131.60	0.47
白葡萄酒	1999	R1	14	102.93	0.404	13	129.64	0.46
甜葡萄酒	2000	R2	15	103.19	0.315	14	129.43	0.60
葡萄酒	2001	R1	12	105.28	0.264	16	131.32	0.68
甜葡萄酒	2001	R2	14	101.96	0.249	15	128.99	1.05
葡萄酒	2002	R1	17	101.01	0.365	16	129.02	0.74
葡萄酒	2002	R2	17	101.30	0.531	17	129.28	0.93
葡萄酒	2003	R1	18	100.08	0.335	18	128.98	0.77
甜葡萄酒	2003	R2	17	100.51	0.399	18	128.31	0.80
葡萄酒	2004	R1	18	102.88	0.485	19	128.06	0.81
甜葡萄酒	2004	R3	16	101.47	0.423	16	130.10	0.71
葡萄酒	2005	R1	19	101.33	0.447	19	129.88	0.76
甜葡萄酒	2005	R2	15	102.53	0.395	15	131.36	0.38
干葡萄酒	2006	R1	18	101.55	0.348	18	131.30	0.51
甜葡萄酒	2006	R2	18	100.31	0.299	18	127.79	0.55
葡萄酒	2007	R1	18	103.36	0.403	18	130.90	0.90
甜葡萄酒	2007	R2	19	102.78	0.437	19	130.72	0.55
葡萄酒	2008	R1	24	103.20	0.261	23	131.29	0.59
甜葡萄酒	2008	R2	20	101.79	0.265	19	129.73	0.34
干葡萄酒	2009	R1	24	102.96	0.280	23	130.25	0.49
甜葡萄酒	2009	R2	21	101.31	0.310	21	127.07	0.50
干葡萄酒	2010	R1	21	101.80	0.350	20	129.65	0.40
气泡葡萄酒	2010	R1	11	101.51	0.310	11	129.09	0.68
干葡萄酒	2010	R2	20	104.05	0.290	19	133.31	0.58

参 考 文 献

- [1] Martin G. J. ,Martin M. L. ,MABON F. ,Anal. Chem. ,1982,54,2380-2382.
- [2] Martin G. J. ,Martin M. L. ,J. Chim. Phys. ,1983,80,294-297.
- [3] Martin G. J. ,Guillou C. ,NAULET N. ,BRUN S. ,Tep Y. ,Cabanis J. C. .
- [4] Cabanis M. T. ,Sudraud P. ,Sci. Alim. ,1986,6,385-405.



- [5] Martin G. J. , Zhang B. L. , NAULET N. and MARTIN M. L. , J. Amer. Chem. Soc. , 1986, 108, 5116-5122.
- [6] Martin G. J. ,Guillou C. ,Martin M. L. ,Cabanis M. T. ,TEP Y. et AERNY J. ,J. Agric. Food Chem. , 1988,36,316.
- [7] MARTIN G. G. ,WOOD R. ,MARTIN,G. J. ,J. AOAC Int. ,1996,79(4),917-928.
- [8] MARTIN G. G. ,HANOTE V. ,LEES M. ,MARTIN Y-L. ,. J. Assoc Off Anal Chem,1996,79,62-72.
- [9] CRAIG H. ,Science,1961,133,. 1702-1703.



气相色谱法测定干型葡萄酒中糖类和残留糖转化的多元醇

(决议 Oeno 9/2006)

1 范围

同时测定葡萄酒中赤藓糖醇、阿拉伯糖醇、甘露糖醇、山梨糖醇和内消旋环己六醇的含量。

由于气相色谱法(GC)测定糖类耗时长且非常复杂,一般用来测定微量的糖,特别是不能用常规酶法测定的糖类(阿拉伯糖,鼠李糖,甘露糖和半乳糖)。但适用于葡萄糖和果糖的测定但可以同时测定所有的糖单体、二聚糖甚至是三聚糖。

注1:由于相应多元醇的存在,一旦糖类物质还原到醛醇形式,就不能通过气相色谱法来测定。

注2:在三甲基硅烷化衍生物(TMS)的形式下,葡萄酒中的糖类物质会给出相应的两种 α 和 β 型甚至是三种或四种 γ 等形式的不同异构体。

注3:在没有预先稀释的情况下,当葡萄糖和果糖含量超过5 g/L时,本方法很难进行检测。

2 原理

干型葡萄酒中的残留糖类物质可经三甲基硅烷化衍生后用气相色谱法来测定。使用内标物为季戊四醇。

3 试剂

3.1 纯六甲基二硅氮烷(HMDS)。

3.2 纯三氟乙酸酐(TFA)。

3.3 纯吡啶。

3.4 纯季戊四醇。

3.5 蒸馏水。

3.6 10 g/L 季戊四醇(内标溶液):将0.15 g 季戊四醇溶解在100 mL 水中。

3.7 可用来制备标准溶液的,葡萄糖、果糖、阿拉伯糖、甘露糖醇和山梨糖醇等纯物质。

3.8 200 g/L 标准溶液:将20 mg 需被测定的物质溶解在100 mL 水中。

注:糖溶液应即配即用。

4 设备和仪器

4.1 1 mL 移液管,最小刻度为0.1 mL。

4.2 洗耳球。

4.3 100 μ L 注射器。

4.4 5 mL 旋盖试管,带有聚四氟乙烯密封旋盖。

4.5 旋转蒸发器,配有可使样品蒸发至干的旋盖试管。

4.6 配有FID火焰离子化检测器的气相色谱仪和具有“分流”模式的进样器1/30~1/50 进样量(1 μ L)的分流。

- 4.7 非极性毛细管柱(SE-30、CPSil-5、HP-1等)50 m×0.25 mm,15 μm 固定相膜厚。
- 4.8 10 μL 进样针。
- 4.9 数据采集系统。
- 4.10 超声波水浴。
- 4.11 实验室通风橱。

5 样品制备

5.1 内标物的加入

在旋盖试管中用移液管加入 1 mL 葡萄酒或 200 mg/L 的标准溶液。

注:适用于高糖含量的小体积葡萄酒。

用注射器加入 50 μL 10 g/L 的季戊四醇溶液(3.6)。

5.2 干燥固体物质的获得

将旋盖试管置于旋转蒸发仪上,在 40℃ 水浴条件下,蒸发所有液体至干。

5.3 加入试剂

5.3.1 将装有固体干燥剂和试剂 3.1、3.2 和 3.3 的试管放置于通风橱内。

5.3.2 用移液管和洗耳球在试管中依次加入 0.20 mL 吡啶、0.7 mL 六甲基二硅氮烷和 0.1 mL 三氟乙酸酐。

5.3.3 将试管盖上盖子。

5.3.4 将试管放置于超声波水浴内超声 5 min 直至所有固体物溶解。

5.3.5 将试管放置于 60℃ 干燥箱内 2 h,以获得羟基或酸的三甲基硅烷(TMS)取代物。

注:加热后应仅有一相(否则试管中有水)。同样,不应有褐色沉淀物,否则说明有额外的未衍生糖存在。

6 色谱分析

6.1 将冷却的试管放置在通风橱内,用注射器吸取 1 μL 然后在“分流”模式(永久分流)下注入色谱仪。

用同样方法处理葡萄酒衍生物和标准品。

6.2 设定柱温箱升温程序。例如以每分钟 3℃ 的速率从 60℃ 升至 240℃,完全分离甘露糖醇和山梨糖醇需要 1 h(分辨率高于 1.5)。

7 计算

例如:计算山梨糖醇的浓度

葡萄酒中山梨糖醇(t_s)的含量

$$t_s = 200 \times \frac{s}{S} \times \frac{I}{i} (\text{mg/L})$$

其中: s ——葡萄酒中山梨糖醇的峰面积;

S ——标准溶液中山梨糖醇的峰面积;

i ——葡萄酒中内标物的峰面积;

I ——标准溶液中内标物的峰面积。



同样也可用来计算葡萄糖(t_g)的含量。

$$t_g = 200 \times \frac{g}{G} \times \frac{I}{i} (\text{mg/L})$$

其中 g 为葡萄酒中葡萄糖的两个峰的面积和, G 是标准溶液中葡萄糖的两个峰的面积和。

8 方法的精密度

多元醇的检测阈值约为 5 mg/L(一个单独的色谱峰)。在 100 mg/L 糖或多元醇浓度范围内,其平均重复性在 10% 范围内。

表1 经 TMS 衍生后葡萄酒中干燥固体物数量重复性的测定

项目	酒石酸	果糖	葡萄糖	甘露糖醇	山梨糖醇	卫矛醇	内消旋环己六醇
平均值/(mg/L)	2013	1238	255	164	58	31	456
典型方差/(mg/L)	184	118	27	8	2	2	28
CV/%	9	10	11	5	3	8	6

CPSil-5CB 50 m×0.25 mm×0.15 μm 色谱柱。分流进样,60℃,3℃/min,240℃。放大图如下。

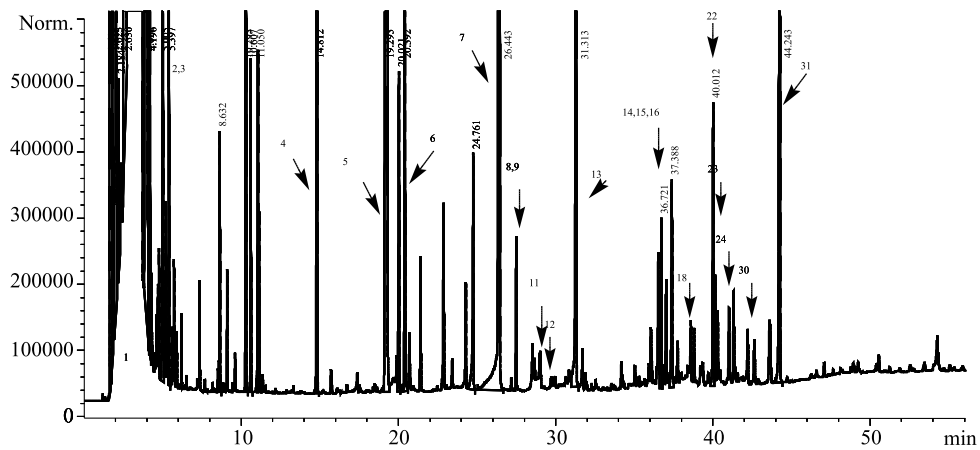


图1 硅烷化后的白葡萄酒色谱图

色谱峰:1—混合反应物;2和3—未知酸;4—季戊四醇;5和6—未知;7—酒石酸和树胶醛酯;
8,10和11—鼠李糖;9—树胶醛酯;12—木糖醇;13—阿拉伯糖醇;14,15和16—果糖;
17—半乳糖和未知;18—α-葡萄糖;19—半乳糖和半乳糖醛酸;20和21—未知;
22—甘露糖醇;23—山梨糖醇;24—β-葡萄糖;25和27—未知;26—半乳糖醛酸;
28和30—半乳糖酸内酯;29—半乳糖酸;31—内消旋环己六醇

CPSil-5CB 50 m×0.25 mm×0.15 μm 色谱柱。分流进样,60℃,3℃/min,240℃。放大图如下:

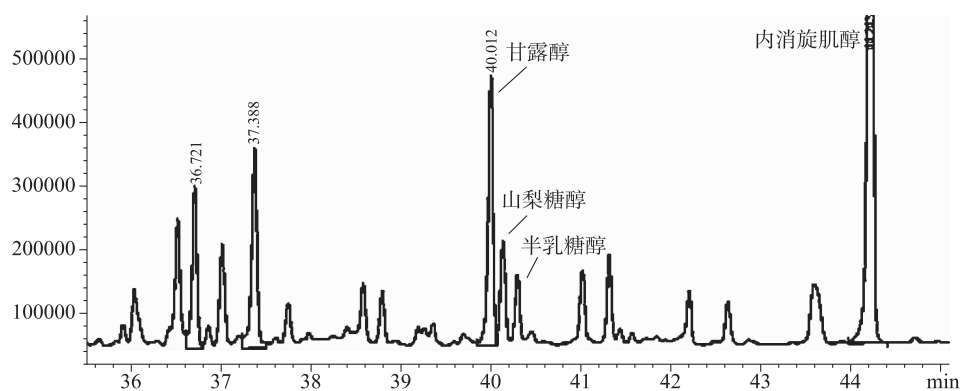


图2 硅烷化后的白葡萄酒色谱图

参考文献

- [1] RIBEREAU-GAYON P. and BERTRAND A. 1972, Nouvelles applications de la chromatographie en phase gazeuse à l'analyse des vins et au contrôle de leur qualité, *Vitis*, 10, 318-322.
- [2] BERTRAND A. (1974), Dosage des principaux acides du vin par chromatographie en phase gazeuse. *FV OIV* 717-718, 253-274.
- [3] DUBERNET M. O. (1974), Application de la chromatographie en phase gazeuse à l'étude des sucres et polyols du vin: thèse 3^e Cycle, Bordeaux.



pH 示差法联合测定葡萄酒中的葡萄糖和果糖

(决议 Oeno 10/2006)

1 范围

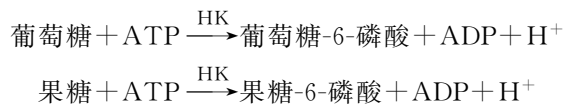
本方法适用于分析葡萄糖和果糖含量在 0~60 g/L(平均含量)或 50 g/L~270 g/L(高含量)的葡萄酒。

2 原理

pH 示差联合测定葡萄糖和果糖含量是通过己糖激酶将葡萄糖和果糖磷酸化,所产生的氢离子含量,与化学计量计算的葡萄糖和果糖的含量对应,从而进行定量。

3 反应

在己糖激酶(HK)催化下,葡萄糖和果糖被三磷酸腺苷(ATP)磷酸化(EC. 2. 7. 1. 1)。



4 试剂

- 4.1 去离子水或双蒸水。
- 4.2 纯度 $\geq 99\%$ 的 2-氨基-2-(羟甲基)丙烷-1,3-二醇(TRIS)。
- 4.3 纯度 $\geq 99\%$ 的三磷酸腺苷二钠盐(ATP, 2Na)。
- 4.4 纯度 $\geq 99\%$ 的十二水合磷酸钠($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.5 纯度 $\geq 98\%$ 的氢氧化钠(NaOH)。
- 4.6 纯度 $\geq 99\%$ 的六水合氯化镁($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.7 聚乙二醇辛基苯基醚。
- 4.8 纯度 99%的氯化钾(KCl)。
- 4.9 2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇(溴硝丙二醇)($\text{C}_3\text{H}_6\text{BrNO}_4$)。
- 4.10 己糖激酶(EC. 2. 7. 1. 1) 1 mg \cong 145 U(例如:霍夫曼罗氏公司,曼海姆,德国, ref. Hexo-70-1351)。
- 4.11 纯度 $\geq 98\%$ 的甘油。
- 4.12 纯度 $\geq 99\%$ 的葡萄糖。
- 4.13 pH=8.0 的缓冲液,可直接购买或根据下述方法准备:

在 100 mL 带刻度的烧杯中,倒入约 70 mL 去离子水,在不断搅拌情况下加入 0.242 g \pm 0.001 g TRIS、0.787 g \pm 0.001 g ATP、0.494 g \pm 0.001 g 磷酸钠、0.009 g \pm 0.001 g 氢氧化钠、0.203 g \pm 0.001 g 氯化镁、2.000 g \pm 0.001 g 聚乙二醇辛基苯基醚、0.820 g \pm 0.001 g 氯化钾和 0.010 g \pm 0.001 g 溴硝丙二醇,加水至刻度。用氢氧化钠或盐酸进行调节,使最终的 pH 保持在 8.0 \pm 0.1。此缓冲液可在 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存 2 个月。



4.14 酶溶液,可直接购买或根据下述方法制备:

用带刻度的移液管吸取 5 mL 甘油置于 10 mL 带刻度的烧杯中,加水至刻度后混匀。溶解 20 mg \pm 1 mg 己糖激酶和 5 mg 溴硝丙二醇在 10 mL 的甘油溶液中。酶溶液的活性必须在每毫升己糖激酶 300 U \pm 50 U。此酶溶液可在 4 $^{\circ}$ C 保存 6 个月。

4.15 标准溶液的制备(平均水平,葡萄糖和果糖的预计含量少于 50 g/L):

将 3.60 g \pm 0.01 g 葡萄糖(预先在 40 $^{\circ}$ C 干燥 12 h,直至恒重)、0.745 g \pm 0.001 g 氯化钾和 0.010 g \pm 0.001 g 溴硝丙二醇放置在一个带刻度的 100 mL 烧杯中。加水后充分混匀。移去磁棒后加水至刻度。葡萄糖溶液的最终浓度为 36 g/L。此溶液可在 4 $^{\circ}$ C 保存 6 个月。

4.16 标准溶液的制备(高水平,葡萄糖和果糖的预计含量高于 50 g/L):

将 18.0 g \pm 0.01 g 葡萄糖(预先在 40 $^{\circ}$ C 干燥 12 h,直至恒重)、0.745 g \pm 0.001 g 氯化钾和 0.010 g \pm 0.001 g 溴硝丙二醇放置在一个带刻度的 100 mL 烧杯中。加水后充分混匀,移去磁棒后加水至刻度。葡萄糖溶液的最终浓度为 180 g/L。此溶液可在 4 $^{\circ}$ C 保存 6 个月。

5 设备

5.1 pH 示差设备(EUROCHEM CL 10plus, Microlab EFA 或类似的仪器)见附录 A。

5.2 A 级带刻度 100 mL 烧杯。

5.3 带刻度的 100 mL 试管。

5.4 精确到 1 mg 的天平。

5.5 磁力搅拌器和聚四氟乙烯磁棒。

5.6 pH 计。

5.7 A 级带刻度的 3 mL、5 mL 移液管。

5.8 A 级带刻度的 10 mL 烧杯。

5.9 25 μ L 和 50 μ L 自动移液器。

6 样品制备

样品不能有太多悬浮物,否则需通过离心或过滤去除。气泡酒必须脱气。

7 步骤

遵照仪器的使用说明书的要求。使用前,仪器温度必须稳定。如有必要,仪器的管路在清洗后先用缓冲液进行润洗。

7.1 空白测定(酶溶液的测定)

在缓冲液中插入 pH 示差仪的电极(EL₁ 和 EL₂);两个电极的电位差(D_1)必须在 \pm 150 mV 之间;在反应容器中用微量移液器加入 24 μ L 酶溶液插入电极 EL₂;测定两个电极的电势差(D_2);计算 pH 的差值,用下列公式来计算空白的 Δ pH₀:

$$\Delta\text{pH}_0 = D_2 - D_1$$

其中: Δ pH₀——两次空白的 pH 差值;

D_1 ——两个电极在缓冲液中 pH 差值;

D_2 ——两个电极之间的 pH 差值,一个在缓冲液中,另一个在缓冲液和酶溶液。



ΔpH_0 的值是用来检查电极在滴定时的状态和它们随时间飘移的情况。在两次连续读数时,它必须在 $-30 \text{ mpH} \sim 0 \text{ mpH}$ 或 $\leq 1.5 \text{ mpH}$ 。否则需检查缓冲液的 pH 或清洁液压系统和电极,然后重复测定空白。

7.2 校准

7.2.1 平均含量

在缓冲液中插入电极 (EL_1 和 EL_2);

在反应容器中(用微量移液器)加入 $25 \mu\text{L}$ 标准葡萄糖溶液;

在缓冲液和标准溶液中插入电极 EL_1 和 EL_2 ;

测定两个电极的电势差 (D_3);

加入 $24 \mu\text{L}$ 酶溶液,在缓冲液+标准溶液+酶溶液中插入电极 EL_2 ;

待酶反应结束后,测定两个电极的电势差 (D_4);

计算 pH 的差值,用下列公式计算标准溶液的 ΔpH_c :

$$\Delta\text{pH}_c = (D_4 - D_3) - \Delta\text{pH}_0$$

其中: ΔpH_c ——标准溶液 D_3 和 D_4 的差减去空白的差值;

D_3 ——两个电极在缓冲/标准混合液中 pH 的差值;

D_4 ——两个电极之间的 pH 差值,一个在缓冲/标准混合液中,另一个在缓冲/标准/酶混合液中。

标准曲线的斜率计算:

$$s = c_u / \Delta\text{pH}_c$$

其中 c_u 是标准溶液中葡萄糖的浓度(g/L)。

根据步骤(7.3),通过 $25 \mu\text{L}$ 葡萄糖标准溶液的检测,来检验校准的有效性。其结果必须在参考值 $\pm 2\%$ 的范围内。否则请重复校准步骤。

7.2.2 高含量

在缓冲液中插入电极 (EL_1 和 EL_2);

在反应容器中用微量移液器加入 $10 \mu\text{L}$ 标准(HL)葡萄糖溶液;

在缓冲液和标准溶液中电极 EL_1 和 EL_2 ;

测定两个电极的电势差 (D_3);

加入 $24 \mu\text{L}$ 酶溶液(4.14),在缓冲液+标准溶液+酶溶液中插入电极 EL_2 ;

待酶反应结束后,测定两个电极的电势差 (D_4);

计算 pH 的差值,用下列公式计算标准溶液的 ΔpH_c :

$$\Delta\text{pH}_c = (D_4 - D_3) - \Delta\text{pH}_0$$

其中: ΔpH_c ——标准溶液 D_3 和 D_4 的差减去空白的差值;

D_3 ——两个电极在缓冲/标准混合液中 pH 的差值;

D_4 ——两个电极之间的 pH 差值,一个在缓冲/标准混合液中,另一个在缓冲/标准/酶混合液。

标准曲线的斜率计算:

$$s = c_u / \Delta\text{pH}_c$$

其中 c_u 为标准溶液中葡萄糖的浓度(g/L)。

根据步骤,通过 $10 \mu\text{L}$ 葡萄糖标准溶液的检测,来检验标准曲线的有效性。其结果必须

在参考值±2%的范围内。否则请重复校准步骤。

7.3 定量

在缓冲液(4.13)中插入电极(EL₁ 和 EL₂)；

在反应容器中用微量移液器加入 10 μL(高含量)或 25 μL(平均含量)的样品溶液；

在缓冲液/样品混合液溶液中插入电极 EL₁ 和 EL₂；

测定两个电极的电势差(D₅)；

加入 24 μL 酶溶液,在缓冲液+样品溶液+酶溶液中插入电极 EL₂；

测定两个电极的电势差(D₆)；

用下列公式计算样品中水溶液的量：

$$w = s \times [(D_6 - D_5) - \Delta\text{pH}_0]$$

其中： w ——样品中水溶液的量(g/L)；

s ——校准曲线的斜率；

ΔpH_0 ——两次空白的 pH 差值；

D_5 ——两个点电极在样品/标准混合液中 pH 差值；

D_6 ——两个电极之间的 pH 差值,一个在缓冲/样品混合液中,另一个在缓冲/样品/酶混合液中。

8 结果表示

葡萄糖和果糖含量单位为 g/L,小数点后保留一位有效数字。

9 精密度

同一方法实验室间比对的精密度结果的详细信息汇总在附录 B 中。

9.1 重复性

在最短时间间隔内,由同一操作者使用相同装置进行相同测试的两个独立结果之间的绝对差值应不超过重复性值 r 的 95%。

$r = 0.021x + 0.289$,其中 x 是葡萄糖+果糖的含量,g/L。

9.2 再现性

由两个实验室进行相同测试的两个结果之间的绝对差值应不超过再现性 R 的 95%。

$R = 0.033x + 0.507$,其中 x 是葡萄糖+果糖的含量,g/L。

10 其他参数

10.1 检测限和定量限

10.1.1 检测限

检测限是根据 10 个系列的 3 次空白重复分析和线性回归对葡萄酒进行精密度测试确定的,等于 3 倍的标准偏差。在此条件下,通过连续稀释的方法确定此方法的检测限为 0.03 g/L。

10.1.2 定量限

定量限是根据 10 个系列的 3 次空白重复分析和线性回归对葡萄酒进行精密度测试确



定的,等于10倍的标准偏差。在此条件下,通过连续稀释的方法确定此方法的定量限为0.10 g/L。此定量限通过实验室间红葡萄酒和白葡萄酒比对试验数据证实。

10.2 准确度

精确性的评估是根据实验室间葡萄酒双盲测试结果的平均覆盖率来计算的(葡萄酒 A、B、C、D、F 和 J)。在0.22%的置信区间内它为98.9%。

11 质量控制

质量控制可以通过有证标准物质、成分特征达成共识的葡萄酒或分析中经常使用的加标葡萄酒,以及相关的质控图来完成。

附录 A

pH 示差仪装置图例

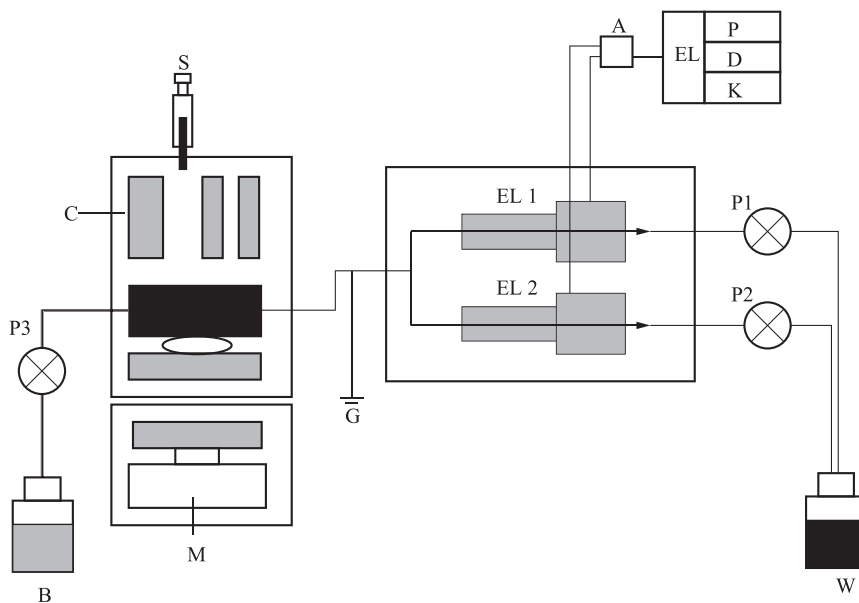


图 A. 1

A—示差放大器;B—缓冲液;C—混合腔;D—指示器;EL1 和 EL2—毛细管电极;
 EL—电子配件;G—接地装置;K—键盘;M—磁力搅拌器;P—打印机;
 P1~P3—蠕动泵;S—样品和酶的进样针;W—废液

附录 B 实验室间比对实验结果统计学数据

根据 ISO 5725-2:1994, 实验室间比对实验的参数结果见表 B.1。比对实验由(法国) Epernay 国际贸易香槟葡萄酒委员会实验室完成。

实验室间比对测试年份:2005。

参加实验室数量:13, 双盲样。

样品数量:10。

表 B.1

项目	葡萄酒 A	葡萄酒 B	葡萄酒 C	葡萄酒 D	葡萄酒 E	葡萄酒 F	葡萄酒 G	葡萄酒 H	葡萄酒 I	葡萄酒 J
平均值/(g/L)	8.44	13.33	18.43	23.41	28.03	44.88	86.40	93.34	133.38	226.63
实验室数量	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
消除最大离散值后实验室数量	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
重复性的标准偏差	0.09	0.13	0.21	0.21	0.29	0.39	0.81	0.85	1.19	1.51
重复性限	0.27	0.38	0.61	0.62	0.86	1.14	2.38	2.51	3.52	4.45
相对重复性标准偏差/%	1.08	0.97	1.13	0.91	1.04	0.86	0.94	0.91	0.89	0.67
HORRAT _r	0.26	0.25	0.31	0.26	0.30	0.27	0.32	0.32	0.33	0.47
再现性标准偏差	0.17	0.27	0.37	0.59	0.55	0.45	1.27	1.43	1.74	2.69
再现性限	0.50	0.79	1.06	1.71	1.60	1.29	3.67	4.13	5.04	7.78
相对再现性偏差/%	2.05	2.05	1.99	2.54	1.97	1.00	1.47	1.53	1.31	1.19
HORRAT _R	0.50	0.54	0.55	0.72	0.58	0.31	0.51	0.53	0.48	0.47

样品类型:

葡萄酒 A: 自然含糖白葡萄酒, 加标葡萄糖 2.50 g/L 和果糖 2.50 g/L;

葡萄酒 B: 自然含糖白葡萄酒(葡萄酒 A), 加标葡萄糖 5.00 g/L 和果糖 5.00 g/L;

葡萄酒 C: 自然含糖白葡萄酒(葡萄酒 A), 加标葡萄糖 7.50 g/L 和果糖 7.50 g/L;

葡萄酒 D: 自然含糖白葡萄酒(葡萄酒 A), 加标葡萄糖 10.0 g/L 和果糖 10.0 g/L;

葡萄酒 E: 加香葡萄酒;

葡萄酒 F: 自然含糖量小于 0.4 g/L 的白葡萄酒, 加标葡萄糖 22.50 g/L 和果糖 22.50 g/L;

葡萄酒 G: 自然甜红葡萄酒;

葡萄酒 H: 甜白葡萄酒;

葡萄酒 I: 普通葡萄酒;

葡萄酒 J: 自然含糖量小于 0.4 g/L 的白葡萄酒, 葡萄糖加标 115.00 g/L 和果糖 115.00 g/L。

参 考 文 献

- [1] LUZZANA M. ,PERELLA M. and ROSSI-BERNARDI L(1971) :Anal. Biochem,43,556-563.
- [2] LUZZANA M. ,AGNELLINI D. ,CREMONESI P. and CARAMENTI g. (2001) :Enzymatic reactions for the determination of sugars in food samples using the differential pH technique. Analyst,126,2149-2152.
- [3] LUZZANA M. ,LARCHER R. ,MARCHITTI C. V. and BERTOLDI D. (2003) :Quantificazione mediante pH-metria differenziale dell'urea negli spumanti metodo classico. in "Spumante tradizionale e classico nel terzo millennio" 27-28 giugno 2003,Istituti Agrario di San Mechele.
- [4] MOSCA A. ,DOSSI g. ,LUZZANA M. ,ROSSI-BERNARDI L. ,FRIAUF W. S. ,BERGER R. L. ,HOPKINS H. P. and CAREY V(1981) :Improved apparatus for the differential measurement of pH: application to the measurement of glucose. Anal. Biochem. ,112,287-294.
- [5] MOIO L. ,GAMBUTI A. ,Di MARZIO L. and PIOMBINO P. (2001) :Differential pHmeter determination of residual sugars in wine. Am. J. Enol. Vitic,52(3) ,271-274.
- [6] TUSSEAU D. ,FENEUIL A. ,ROUCHAUSSE J. M. et VAN LAER S. (2004) : Mesure différents paramètres d'intérêt œnologiques par pHmétrie différentielle. FV. OOIV 1199,5 pages.



pH 示差法测定葡萄酒中的葡萄糖、果糖和蔗糖总量

(决议 Oeno 11/2006)

1 范围

本方法适用于分析葡萄糖和果糖含量为 0~270 g/L 的葡萄酒。

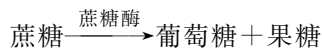
此定量方法不可取代 pH 示差法分别测定葡萄糖和果糖。

2 原理

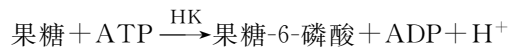
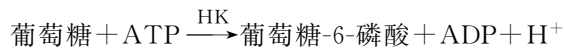
pH 示差法测定葡萄糖、果糖和蔗糖含量,包括蔗糖酶水解的蔗糖,之后己糖激酶磷酸化的葡萄糖和果糖。所产生的氢离子含量,与化学计量计算的葡萄糖和果糖的含量对应,从而进行定量。

3 反应

蔗糖被酶水解(EC 3. 2. 1. 26)



在己糖激酶(HK)的催化下,原有的葡萄糖和果糖,以及水解而来的葡萄糖和果糖被三磷酸腺苷(ATP)磷酸化。(EC 2. 7. 1. 1)



4 试剂

- 4.1 去离子水或双蒸水。
- 4.2 纯度 $\geq 99\%$ 的 2-氨基-2-(羟甲基)丙烷-1,3-二醇(TRIS)。
- 4.3 纯度 $\geq 99\%$ 的三磷酸腺苷二钠盐(ATP, 2Na)。
- 4.4 纯度 $\geq 99\%$ 的十二水合磷酸钠($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.5 纯度 $\geq 98\%$ 的氢氧化钠(NaOH)。
- 4.6 纯度 $\geq 99\%$ 的六水合氯化镁($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.7 聚乙二醇辛基苯基醚。
- 4.8 纯度 $\geq 99\%$ 的氯化钾(KCl)。
- 4.9 2-溴-2-硝基丙烷-1,3-二醇(溴硝丙二醇)($\text{C}_3\text{H}_6\text{BrNO}_4$)。
- 4.10 蔗糖酶(EC 3. 2. 1. 26) 1 mg \cong 500 U(例如:西格玛公司 ref I-4504)。
- 4.11 己糖激酶(EC. 2. 7. 1. 1) 1 mg \cong 145 U(例如:霍夫曼罗氏公司,曼海姆,德国, ref. Hexo-70-1351)。
- 4.12 纯度 $\geq 98\%$ 的甘油。
- 4.13 纯度 $\geq 99\%$ 的蔗糖。

4.14 pH=8.0的缓冲液,可直接购买(ex. DIFFCHAMB GEN 644)或根据下述方法准备:在100 mL带刻度的烧杯中,倒入约70 mL水、在不断搅拌情况下加入0.242 g±0.001 g TRIS、0.787 g±0.001 g ATP、0.494 g±0.001 g 磷酸钠、0.009 g±0.001 mg 氢氧化钠、0.203 g±0.001 g 氯化镁(4.6)、2.000 g±0.001 g 聚乙二醇辛基苯基醚、0.820 g±0.001 g 氯化钾和0.010 g±0.001 g 溴硝丙二醇,加水至刻度。用氢氧化钠或盐酸进行调节,使最终的pH保持在8.0±0.1。此缓冲液可在4℃保存2个月。

4.15 酶溶液,可直接购买或根据下述方法准备:用带刻度的移液管吸取5 mL甘油置于10 mL带刻度的烧杯中,加水至刻度后混匀。溶解300 mg±1 mg 蔗糖酶和10 mg±1 mg 己糖激酶于3 mL的甘油溶液中。酶溶液的活性必须在每毫升蔗糖酶50 000 U±100 U和每毫升己糖激酶480 U±50 U。此酶溶液可在4℃保存6个月。

4.16 标准溶液的制备

将17.100 g±0.01 g 蔗糖(预先在40℃干燥12 h,直至恒重),0.745 g±0.001 g 氯化钾和0.010 g±0.001 g 溴硝丙二醇放置在一个带刻度的100 mL烧杯中。加水后充分混匀。移去磁棒后加水至刻度。蔗糖溶液的最终浓度为171 g/L。此溶液可在4℃保存6个月。

5 设备

- 5.1 pH示差设备(EUROCHEM CL 10plus, Microlab EFA 或类似的仪器)见附录A。
- 5.2 A级带刻度100 mL烧杯。
- 5.3 带刻度的100 mL试管。
- 5.4 精确到1 mg的天平。
- 5.5 磁力搅拌器和聚四氟乙烯磁棒。
- 5.6 pH计。
- 5.7 A级带刻度的3 mL、5 mL移液管。
- 5.8 A级带刻度的10 mL烧杯。
- 5.9 25和50 μL自动移液器。

6 样品制备

样品不能有太多悬浮物,否则要通过离心或过滤去除。气泡酒必须脱气。

7 步骤

遵照仪器的使用说明书的要求。使用前,仪器温度必须稳定。如有必要,仪器的管路在清洗后先要用缓冲液进行润洗。

7.1 空白测定(酶溶液的测定)

在缓冲液中插入pH示差仪的电极(EL₁和EL₂);两个电极的电位差(D₁)必须在±150 mV之间;

在反应容器中用微量移液器加入32 μL酶溶液插入电极EL₂;

测定两个电极的电势差(D₂);

计算pH的差值,用下列公式来计算空白的ΔpH₀:



$$\Delta\text{pH}_0 = D_2 - D_1$$

其中： ΔpH_0 ——两次空白的 pH 差值；

D_1 ——两个电极在缓冲液中 pH 差值；

D_2 ——两个电极之间的 pH 差值，一个在缓冲液中，另一个在缓冲液和酶溶液。

ΔpH_0 的值是用来检查电极在滴定时的状态和它们随时间飘移的情况，在两次连续读数时，它必须在 $-30 \text{ mpH} \sim 0 \text{ mpH}$ 或 $\leq 1.5 \text{ mpH}$ 。否则要检查缓冲液的 pH 或清洁液压系统和电极，然后重复测定空白。

7.2 校准

在缓冲液中插入电极 (EL_1 和 EL_2)；

在反应容器中(用微量移液器 5.9)加入 $10 \mu\text{L}$ 标准蔗糖溶液；

在缓冲液和标准溶液中插入电极 EL_1 和 EL_2 ；

测定两个电极的电势差 (D_3)；

加入 $32 \mu\text{L}$ 酶溶液，在缓冲液+标准溶液+酶溶液中插入电极 EL_2 ；

待酶反应结束后，测定两个电极的电势差 (D_4)；

计算 pH 的差值，用下列公式计算标准溶液的 ΔpH_c ：

$$\Delta\text{pH}_c = (D_4 - D_3) - \Delta\text{pH}_0$$

其中： ΔpH_c ——标准溶液 D_3 和 D_4 的差减去空白的差值；

D_3 ——两个电极在缓冲/标准混合液中 pH 的差值；

D_4 ——两个电极之间的 pH 差值，一个在缓冲/标准混合液中，另一个在缓冲/标准/酶混合液中。

标准曲线的斜率计算：

$$s = c_u / \Delta\text{pH}_c$$

其中， c_u 为标准溶液中葡萄糖的浓度 (g/L)。

根据步骤，通过 $10 \mu\text{L}$ 标准蔗糖溶液的检测，来检验校准的有效性。其结果必须在参考值 $\pm 2\%$ 的范围内。否则请重复校准步骤。

7.3 定量

在缓冲液中插入电极 (EL_1 和 EL_2)；

在反应容器中用微量移液器加入 $10 \mu\text{L}$ 的样品溶液；

在缓冲液/样品混合液溶液中插入电极 EL_1 和 EL_2 ；

测定两个电极的电势差 (D_5)；

加入 $32 \mu\text{L}$ 酶溶液，在缓冲液+样品溶液+酶溶液中插入电极 EL_2 ；

测定两个电极的电势差 (D_6)；

用下列公式计算样品中水溶液的量：

$$w = s \times [(D_6 - D_5) - \Delta\text{pH}_0]$$

其中： w ——样品中水溶液的量 (g/L)；

s ——校准的斜率；

ΔpH_0 ——两次空白的 pH 差值；

D_5 ——两个点击在样品/标准混合液中 pH 的差值；

D_6 ——两个电极之间的 pH 差值，一个在缓冲/样品混合液中，另一个在缓冲/样品/酶混合液中。

8 结果表示

葡萄糖和果糖含量单位为 g/L，小数点后保留一位有效数字。

9 方法的精密度

由于葡萄酒和葡萄汁中蔗糖的水解，因此无法根据 OIV 的方法组织实验室间比对实验。

实验室间研究表明，本方法对于蔗糖，线性在 0~250 g/L 之间，检测限为 0.2 g/L，定量限为 0.6 g/L，重复性为 $0.0837x - 0.0249$ g/L，再现性为 $0.0935x - 0.073$ g/L(蔗糖含量)。

10 质量控制

质量控制可以通过有证标准物质、成分特征达成共识的葡萄酒或分析中经常使用的加标葡萄酒，以及相关的质控图来完成。



附录 A pH 示差仪装置图例

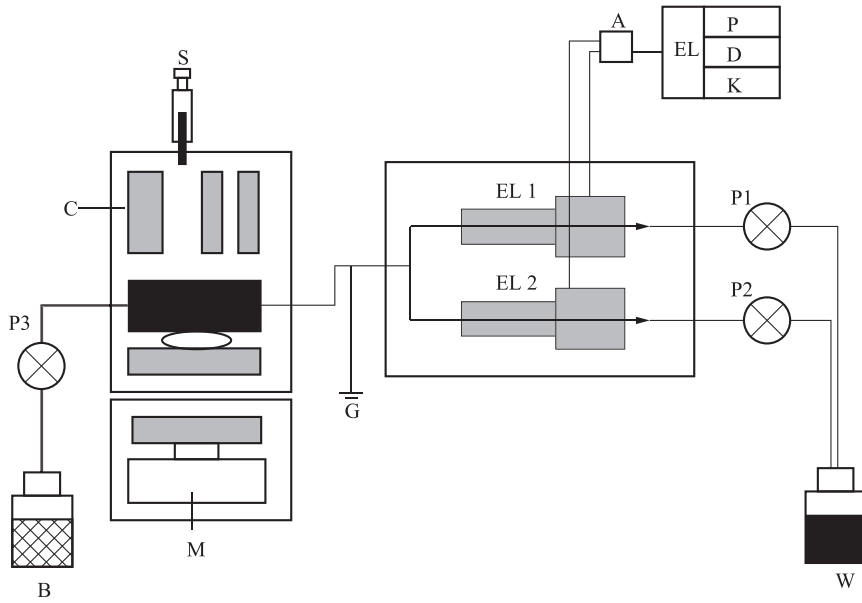


图 A. 1

A—示差放大器;B—缓冲液;C—混合腔;D—指示器;EL1 和 EL2—毛细管电极;
 EL—电子配件;G—接地装置;K—键盘;M—磁力搅拌器;P—打印机;
 P1~P3—蠕动泵;S—样品和酶的进样针;W—废液

参 考 文 献

- [1] LUZZANA M. ,PERELLA M. et ROSSI-BERNARDI L.(1971):Electrometric method for measurement of small pH changes in biological systems. *Anal. Biochem*,43,556-563.
- [2] LUZZANA M. ,AGNELLINI D. ,CREMONESI P. et CARAMENTI G. (2001):Enzymatic reactions for the determination of sugars in food samples using the differential pH technique. *Analyst*,126,2149-2152.
- [3] LUZZANA M. ,LARCHER R. ,MARCHITTI C. V. et BERTOLDI D. (2003):Quantificazione mediante pH-metria differenziale dell'urea negli spumanti metodo classico. in "Spumante tradizionale e classico nel terzo millennio" 27-28 giugno 2003,Instituti Agrario di San Mechele.
- [4] MOIO L. ,GAMBUTI A. ,Di MARZIO L. et PIOMBINO P. (2001):Differential pHmeter determination of residual sugars in wine. *Am. J. Enol. Vitic*,52(3) ,271-274.
- [5] MOSCA A. ,DOSSI G. ,LUZZANA M. ,ROSSI-BERNARDI L. ,FRIAUF W. S. ,BERGER R. L. , HOPKINS H. P. et CAREY V(1981):Improved apparatus for the differential measurement of pH ;application to the measurment of glucose. *Anal. Biochem.* ,112,287-294.
- [6] TUSSEAU D. ,FENEUIL A. ,ROUCHAUSSE J.-M. et VAN LAER S. (2004):Mesure de différents paramètres d'interêt oenologique par pHmétrie différentielle. *F. V. O. I. V.* n° 1199,5 pages.



3.1.2 醇类

方法 OIV-MA-AS312-01A

方法类型 I

酒精度(比重瓶测定法、振荡器法、流体静力学平衡法)

(决议 Oeno 377/2009)

1 定义

酒精体积百分含量(简称酒精度或酒度)是 20℃ 时 100 L 葡萄酒中含有乙醇的体积分数,用 % vol 表示。

注:由于馏出物中有乙醇的同系物,因此酒精度包含了乙醇及其酯类的同系物。

2 方法原理

用氢氧化钙碱化葡萄酒测定馏出物的酒精浓度。

一般有以下三种方法:

- a) 用比重计测定馏出物的酒精浓度。
- b) 用频率振荡电子密度计测定葡萄酒的酒精浓度。
- c) 用液体比重天平测定葡萄酒的酒精浓度。

3 蒸馏物提取

3.1 设备

3.1.1 蒸馏装置,包括:

- 容量为 1 L 的圆底烧瓶;
- 约 20 cm 长的精馏柱或相似的冷凝管;
- 加热源;用适当的设施防止试液热解;
- 底部管子渐细的冷凝器将馏出物接收在底部有几毫升水的带刻度的小烧瓶中。

3.1.2 水蒸气蒸馏装置,包括:

- 水蒸气发生器;
- 蒸汽管;
- 精馏柱;
- 冷凝器。

只要符合下述要求,所有类型的蒸馏装置或水蒸气蒸馏装置都可以使用:

连续 5 次蒸馏酒精度为 10% vol 的乙醇-水混合物,第 5 次蒸馏后,馏出物的酒精度最低为 9.9%,即在每次蒸馏过程中,酒精的损失量不得大于 0.02%。

3.2 试剂

2 mol/L 氢氧化钙悬浮液:在 120 g 生石灰(氧化钙)中加入 1 L 60℃~70℃ 热水。



3.3 样品预处理

将 250 mL~300 mL 葡萄酒或起泡酒加入到 1 000 mL 的烧瓶中摇动,最大限度地去除二氧化碳。

3.4 步骤

用容量瓶量取 200 mL 葡萄酒,记录葡萄酒温度。

将葡萄酒移入圆底烧瓶中,每次用 5 mL 水清洗容量瓶,清洗四次,加入到烧瓶中。蒸馏时加入 10 mL 2 mol/L 氢氧化钙悬浮液和一些惰性多孔材料(沸石等),用 200 mL 的容量瓶接收馏出物,待测量。

蒸馏时收集初始体积的四分之三;水蒸气蒸馏时收集约 198 mL~199 mL 馏出物。加入蒸馏水至 200 mL,馏出物的温度和原溶液温度差应小于 2℃。

小心摇晃混匀。

注:如果葡萄酒中含有大量氨离子,用 1 mL 体积分数为 10% 的硫酸代替氢氧化钙,按照上述条件重新蒸馏。

4.1 用比重计测定馏出物的酒精度

(方法 A2/1978-决议 377/2009)

4.1.1 设备

使用 OIV-MA-AS2-01“密度和比重”中的比重瓶。

4.1.2 步骤

按 OIV-MA-AS2-01“密度和比重”中的方法测定 $t^{\circ}\text{C}$ 时馏出物(3.4)的表观密度,该密度为 ρ_t 。

4.1.3 结果表示

4.1.3.1 计算方法

用 OIV-MA-AS312-01B 表 1 查找 20℃ 时的酒精度。表中,在紧接着 $t^{\circ}\text{C}$ 的下方,找到相应的温度 T (以整数表示)下,大于 ρ_t 的最小密度。利用该密度数值下面的差计算 $T^{\circ}\text{C}$ 的密度 ρ 。

在温度 $T^{\circ}\text{C}$ 一行上,找到大于 ρ 的密度 ρ' ,计算 ρ 和 ρ' 的差值,用差值除以密度 ρ' 右侧的数值,商为酒精度的小数部分,表的顶部密度 ρ' 所对应的数值为酒精度的整数部分。

本章附录 A 中给出了计算酒精度的例子。

注:已有相应的计算机程序,可自动进行温度修正。

4.1.3.2 重复性限 r

$$r=0.10\% \text{ vol.}$$

4.1.3.3 再现性限 R

$$R=0.19\% \text{ vol.}$$

4.2 用频率振荡电子密度计测定葡萄酒的酒精度(决议 Oeno 8/2000-377/2009)

4.2.1 测定方法

4.2.1.1 酒精度的概述

葡萄酒的酒精度必须在商品化之前测定,从而使之符合标签的规定。



酒精度是 20℃ 时 100 L 葡萄酒中含有乙醇的体积分数,用“% vol”表示。

4.2.1.2 预防安全措施

小心使用蒸馏装置,依照安全规范操作酒精水溶液以及清洗液。

4.2.1.3 应用领域

此方法用频率震荡电子密度计对酒精浓度进行测定。根据规定,试验温度为 20℃。

4.2.1.4 原理和定义

该方法的原理是首先将按前述步骤对葡萄酒进行蒸馏。该步骤可以除去不挥发的物质。由于馏出物中有乙醇的同系物,因此酒精度包含了乙醇及其酯类的同系物。

测定馏出物的密度。在给定温度下,液体的密度等于它的质量与体积比。

$\rho = m/V$,对于葡萄酒,表示为 g/mL。

对于乙醇-水溶液,例如馏出物,在给定温度下,酒精度与图表相对应(OIV 1990),同时与葡萄酒的酒精度一致。

在此方法中,馏出物的密度由频率震荡电子密度计来测定。它的原理是测定受到电磁刺激的样品试管的震荡周期。由下述公式计算密度:

$$\rho = T^2 \times \left(\frac{C}{4\pi^2 V} \right) - \left(\frac{M}{V} \right) \dots\dots\dots (1)$$

- 其中: ρ ——样品密度;
- T ——震动周期;
- M ——空试管的质量;
- C ——弹簧常数;
- V ——震动样品的体积。

上述方程可以简化为:

$$\rho = A \cdot T^2 - B \dots\dots\dots (2)$$

密度与震动周期的平方之间呈线性关系。每个震荡周期的特定常数 A 和 B 可以通过测定已知密度流体的周期来估算。

4.2.1.5 试剂

4.2.1.5.1 标准溶液

用两种标准溶液来校正密度计。标准溶液的密度范围必须包含馏出物测定密度的范围。标准溶液的密度差在 0.010 00 g/mL 之间。在 20.00℃ ± 0.05℃ 时,其密度的不确定性必须在 ± 0.000 05 g/mL。

根据下述步骤用电子密度计测定葡萄酒中酒精浓度:

- 干空气(未经污染的);
- 相当于分析纯的双蒸水;
- 用比重计测定密度的乙醇水溶液(参考方法);
- 根据国家标准黏度在 2 mm²/s 以下的溶液。

4.2.1.5.2 清洁及干燥物

- 清洁剂,酸;
- 有机溶剂:96% vol 乙醇,纯丙酮。

4.2.1.6 装置

4.2.1.6.1 频率振荡电子密度计

电子密度计包括以下部件:

- 测量室,包括一个测试管和一个控温室;
- 测试管振荡周期的测定系统;
- 计时器;
- 数字显示器和计算器。

与震动隔离的有稳定支撑的密度计。

4.2.1.6.2 测量室中的温度控制

将测试管放于控温室中。温度必须稳定在 $\pm 0.02^{\circ}\text{C}$ 之间。

由于温度会对结果造成很大影响,所以需要严格控制测量室的温度。10% vol 水-乙醇溶液的密度在 20°C 时为 0.98471 g/mL ,在 21°C 为 0.98447 g/mL ,两者相差 0.00024 g/mL 。

测试温度应保持在 20°C 。使用符合国家标准分辨率为 0.01°C 的温度计,记录测量室的温度,温度测量的不确定读数必须在 $\pm 0.07^{\circ}\text{C}$ 之内。

4.2.1.6.3 设备校准

设备在第一次使用前必须校准,然后每隔六个月或验证不通过时也需要校准。使用两个标准溶液来计算常数 A 和 B [见式(2)]。根据仪器使用手册来完成校准。原则上,用干空气(需考虑到大气压)或纯水(双蒸水或过滤后的高纯水,例如电阻率 $>18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$)来校准。

4.2.1.6.4 验证校准

通过测定标准溶液的密度验证校准。

——每天需完成对空气的密度检查。若理论密度与所测密度的差值大于 0.00008 g/mL ,则表示试管被堵塞,需清洗测试管。在清洗测试管后,再次检测空气密度。如果检测不通过,再次调整设备。

——检查水的密度,如果理论密度与测定密度之间的差值大于 0.00008 g/mL ,需调整设备。

——如果测量室的温度检测困难,可直接将水-乙醇溶液的酒精度与馏出物的相比较。

4.2.1.6.5 检查

如果标准溶液(不确定度在 $\pm 0.00005\text{ g/mL}$ 之内)的理论密度和测定值的差值大于 0.00008 g/mL ,需记录测量室的温度。

4.2.1.7 样品制备

见3.4 馏出物制备。

4.2.1.8 操作步骤

在制得馏出物之后,用密度计测定密度或酒精度。

操作者需保证测量室的温度稳定。测量室中的馏出物不能有气泡且要混合均匀。如果有照明系统,在测试之后立即关闭,以免灯产生的热量会影响温度。

如果设备仅提供振荡周期的时间,可以通过 A 和 B 常数来计算密度[见式(2)]。如果仪器不能直接给出酒精度的数值,可以利用已知密度通过表格来得到酒精度。

4.2.1.9 结果表示

馏出物的酒精度表示为%vol。



如果温度不是 20℃,必须校正。结果需保留两位小数。

4.2.1.10 注释

为防止之前样品的污染,需要导入足够的测试的样品,并有必要进行平行样试验。如果平行结果不在重复性限之内,需要进行第3次测试。一般情况下,如果后两次的结果是相似,则可以排除第一次的结果。

4.2.1.11 精密度性

酒精度在 4%vol~18%vol 之间的样品。

重复性(r)=0.067(%vol)

再现性(R)=0.0454+0.0105×酒精度(%vol)

4.2.2 实验室间比对实验,加标样品的可靠性和准确性

4.2.2.1 样品

合作研究用的样品见表1。

表1 比对实验所用样品

编号	类型	大致的酒精度/%vol
C0	苹果酒(通过滤膜去除二氧化碳)	5
V0	过滤葡萄酒	10
V1	添加乙醇的过滤葡萄酒	11
V2	添加乙醇的过滤葡萄酒	12
V3	添加乙醇的过滤葡萄酒	13
P0	利口葡萄酒	16

所有的样品必须装瓶送到参加实验室前进行均质。添加乙醇前,先将 40 L 葡萄酒进行匀质。

添加时,将纯乙醇倒入一个 5 L 容量瓶中,然后加入过滤的葡萄酒至刻度。重复此操作两次。对 V1、V2 和 V3 样品,乙醇体积分别为 50 mL、100 mL 和 150 mL。

4.2.2.2 参加比对实验的实验室见表2

表2 参与合作研究的实验室

实验室	邮政编码	城市	联系人
ALKO Group LTD	FIN-00101	Helsinki	Monsieur Lehtonen
Bénédictine	76400	Fécamp	Madame Pillon
Casanis	18881	Gemenos	Madame Cozon
CIVC	51200	Epernay	Monsieur Tusseau
Cointreau	49181	St Barthélémy d'Anjou	Madame Guerin
Courvoisier	16200	Jarnac	Monsieur Lavergne
Hennessy	16100	Cognac	Monsieur Calvo

表 2(续)

实验室	邮政编码	城市	联系人
IDAC	44120	Vertou	Madame Mars
Laboratoire Gendrot	33000	Bordeaux	Madame Gubbiotti
Martell	16100	Cognac	Monsieur Barboteau
Ricard	94320	Thiais	Monsieur Boulanger
SOEC Martin Vialatte	51319	Epernay	Madame Bertemes

比对实验的组织者为法国干邑行业局。

4.2.2.3 分析

C0 和 P0 样品蒸馏了两次,而 V0、V1、V2 和 V3 样品则蒸馏了 3 次。每份馏出液进行 3 次酒精度测试。结果见列表。

4.2.2.4 结果

3 次测试中的第 2 次结果被用来进行精密度研究(表 3)。

表 3 结果(每份馏出液的第 2 次测试, % vol)

实验室	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	6.020	9.500	10.390	11.290	12.100	17.080
	5.970	9.470	10.380	11.260	12.150	17.080
		9.450	10.340	11.260	12.150	
2	6.040	9.500	10.990	11.270	12.210	17.050
	6.040	9.500	10.390	11.280	12.210	17.050
		9.510	10.400	11.290	12.200	
3	5.960	9.460	10.350	11.280	12.170	17.190
	5.910	9.460	10.360	11.280	12.150	17.200
		9.450	10.340	11.260	12.170	
4	6.020	9.470	10.310	11.250	12.160	16.940
	6.020	9.450	10.350	11.250	12.120	17.070
		9.450	10.330	11.210	12.130	
5	5.950	9.350	10.250	11.300	12.050	17.000
	5.950	9.430	10.250	11.300	12.050	17.000
		9.430	10.250	11.300	12.050	
6	6.016	9.513	10.370	11.275	12.222	17.120
	6.031	9.513	10.336	11.266	12.222	17.194
		9.505	10.386	11.275	12.220	

表 3(续)

实验室	C0	V0	V1	V2	V3	P0
7	5.730	9.350	10.230	11.440	12.080	17.010
	5.730	9.430	10.220	11.090	12.030	16.920
		9.460	10.220	11.080	11.930	
8	5.990	9.400	10.340	11.160	12.110	17.080
	6.000	9.440	10.320	11.150	12.090	17.110
		9.440	10.360	11.210	12.090	
9	6.031	9.508	10.428	11.289	12.180	17.089
	6.019	9.478	10.406	11.293	12.215	17.084
		9.509	10.411	11.297	12.215	
10	6.030	9.500	10.380	11.250	12.150	17.130
	6.020	9.510	10.380	11.250	12.150	17.100
		9.510	10.380	11.250	12.160	
11	6.020	9.480	10.400	11.260	12.150	17.040
	6.000	9.470	10.390	11.260	12.140	17.000
		9.490	10.370	11.240	12.160	

4.2.2.5 重复性和再现性

重复性和再现性计算符合标准 NF X06-041,1983/9,ISO 5725。表 4 列出了标准偏差(实验室×样品)。

表 4 离散表(%vol 的标准偏差)

实验室	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	0.035 4	0.025 2	0.026 5	0.017 3	0.028 9	0.000 0
2	0.000 0	0.005 8	0.343 6	0.010 0	0.005 8	0.000 0
3	0.035 4	0.005 8	0.010 0	0.011 5	0.011 5	0.007 1
4	0.000 0	0.011 5	0.020 0	0.023 1	0.020 8	0.091 9
5	0.000 0	0.046 2	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
6	0.010 6	0.004 6	0.025 5	0.005 2	0.001 2	0.052 3
7	0.000 0	0.056 9	0.005 8	0.205 0	0.076 4	0.063 6
8	0.007 1	0.023 1	0.020 0	0.032 1	0.011 5	0.021 2
9	0.008 5	0.017 6	0.011 5	0.004 0	0.020 2	0.003 5
10	0.007 1	0.005 8	0.000 0	0.000 0	0.005 8	0.021 2
11	0.014 1	0.010 0	0.015 3	0.011 5	0.010 0	0.028 3

三个单元格有较强的分散性(概率为1%的Cochran测试)。这些单元格被标注为灰色。
对于实验室7的样品V3,由于在相同实验室条件下,它和样品V0的值在同一水平,所以尽管有Cochran测试,它的标准偏差0.0764仍被标注为灰色。

在核对每份馏出物的值后,剔除了表3中的:

实验室2的样品V1,数值10.990。

实验室7的样品V2,数值11.440。

剔除这两个值后,计算各单元格的平均值(实验室×样品)见表5。

表5 平均值(%vol)

实验室	C0	V0	V1	V2	V3	P0
1	5.995 0	9.473 3	10.370 0	11.270 0	12.133 3	17.080 0
2	6.040 0	9.503 3	10.395 0	11.280 0	12.206 7	17.050 0
3	5.935 0	9.456 7	10.350 0	11.273 3	12.163 3	17.195 0
4	6.020 0	9.456 7	10.330 0	11.236 7	12.136 7	17.005 0
5	5.950 0	9.403 3	10.250 0	11.300 0	12.050 0	17.000 0
6	6.023 5	9.510 3	10.364 0	11.272 0	12.221 3	17.157 0
7	5.730 0	9.413 3	10.223 3	11.085 0	12.013 3	16.965 0
8	5.995 0	9.426 7	10.340 0	11.173 3	12.096 7	17.095 0
9	6.025 0	9.498 3	10.415 0	11.293 0	12.203 3	17.086 5
10	6.025 0	9.506 7	10.380 0	11.250 0	12.153 3	17.115 0
11	6.010 0	9.480 0	10.386 7	11.253 3	12.150 0	17.020 0

表5中,实验室7给出的数值普遍偏低。在苹果酒的实验中,该实验室给出的平均值远低于其他实验室(Dixon测试的相关概率在1%以下)。所以该实验室的这个结果也被剔除。

表6给出了重复性和再现性的计算结果。

表6 重复性和再现性的计算结果

样品	P	n	TAV	S_r^2	S_L^2	r	R
C0	10	20	6.002	0.000 298	0.001 033	0.049	0.103
V0	11	33	9.466	0.000 654	0.001 255	0.072	0.124
V1	11	32	10.344	0.000 255	0.003 485	0.045	0.173
V2	11	32	11.249	0.000 219	0.003 113	0.042	0.163
V3	11	33	12.139	0.000 722	0.003 955	0.076	0.194
P0	11	22	17.070	0.001 545	0.004 154	0.111	0.214

其中: p ——保留的实验室数量;

n ——保留的数据结果;

TAV——酒精度的平均值(%vol);



S_r^2 ——重复性变异(%vol);

S_L^2 ——实验室间变异(%vol);

r ——重复性限(%vol);

R ——再现性限(%vol)。

再现性限随着酒精度的升高而升高(图1)。随着酒精度的上升,重复性的上升不明显,重复性限是根据重复性变异平均值来计算的。因此,对于酒精度为4%vol~18%vol的样品:

重复性限(r)=0.067(%vol)

再现性限(R)=0.0454+0.0105×酒精度(%vol)

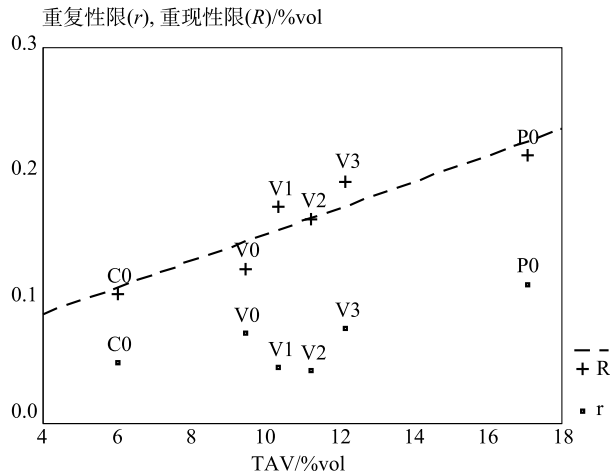


图1 根据酒精度得出的重复限和再现限

4.2.2.6 加标葡萄酒测试的准确度

根据添加乙醇的体积和对应的酒精度得到的回归曲线,添加体积为0 mL时,可得出产品的初始酒精度(图2)。此回归曲线是根据每个实验室的平均值而得出的(表5)。

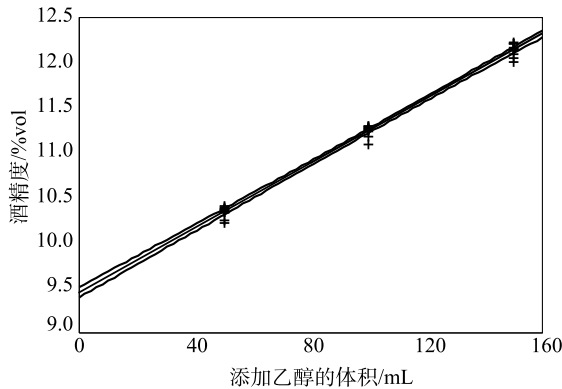


图2 添加乙醇与测得酒精度的回归曲线

对初始产品的测试则不包括预估。此预估是在向产品添加乙醇之前得到的平均数,两次预估之间的相对置信区间见表7。

表7 样品中添加乙醇试验结果的预估

BI	平均测定值	BS	BI	样品的预估值+添加量	BS
9.440	9.466	9.492	9.392	9.450	9.508

其中:BI——在95%的置信区间以下;

BS——在95%的置信区间以上。

两个置信区间覆盖了大部分重叠扩展区域。通过对加标样品的测量,可以得出样品最初的酒精度。

4.2.2.7 实验室间比对实验结果

酒精度在4%vol~18%vol的样品:

重复性(r)=0.67(%vol)

再现性(R)=0.454+0.0105×酒精度(%vol)

根据 Horwitz 公式,Hor 和 HoR 相对较弱(表8)。这些参数给不同浓度水平样品的分析方法提供了很多参考。

表8 方法精密度参数

样品	C0	V0	V1	V2	V3	P0
<i>N</i>	20	33	32	32	33	22
<i>P</i>	10	11	11	11	11	11
酒精度	6.001 9	9.466 2	10.344 3	11.249 2	12.138 9	17.069 9
<i>r</i>	0.048 9	0.072 4	0.045 2	0.041 9	0.076 0	0.111 3
S_r	0.017 3	0.025 6	0.016 0	0.014 8	0.026 9	0.039 3
RSD _r	0.287 8	0.270 2	0.154 3	0.131 6	0.221 4	0.230 3
RSD _{rH}	2.015 9	1.882 2	1.857 3	1.834 0	1.813 1	1.722 4
Hor	0.142 8	0.143 6	0.083 1	0.071 8	0.122 1	0.133 7
<i>R</i>	0.103 3	0.123 7	0.173 1	0.163 4	0.193 5	0.213 6
S_R	0.036 5	0.043 7	0.061 2	0.057 7	0.068 4	0.075 5
RSD _R	0.608 0	0.461 6	0.591 2	0.513 1	0.563 4	0.442 3
RSD _{RH}	3.054 3	2.851 9	2.814 1	2.778 8	2.747 1	2.609 7
HoR	0.199 1	0.161 9	0.210 1	0.184 7	0.205 1	0.169 5

其中:*n*——保留的数据结果;

p——保留的实验室数量;

酒精度——平均值(%vol);

r——重复性限(%vol);



S_r ——重复性标准偏差(%)；

RSD_r ——重复性变异系数($S_r \times 100/TAV$)(%)；

RSD_{rH} ——Horwitz 重复性变异系数($0.66 \times RSD_r H$)(%)；

Hor——Horrat 重复性值(RSD_r/RSD_{rH})；

R ——再现性限(%vol)；

S_R ——再现性标准偏差(%)；

RSD_R ——再现性变异系数($S_R \times 100/TAV$)(%)；

RSD_{RH} ——Horwitz 再现性变异系数 $[2^{(1-0.5 \lg TAV)}]$ (%)；

HoR——Horrat 再现性值(RSD_R/RSD_{RH})。

通过对样品添加进行实验室间的比对实验,得到了样品的初始酒精度,分别为 9.45%vol 和 9.47%vol。

4.3 液体比重天平法测定葡萄酒的酒精浓度(决议 Oeno 24/2003-377/2009)

4.3.1 测定方法

4.3.1.1 酒精度的概述

葡萄酒的酒精度必须在商品化之前测定,从而使之符合标签的规定。

酒精度是 20℃ 时 100 L 葡萄酒中含有乙醇的体积分数,用“%vol”表示。

4.3.1.2 预防安全措施

小心使用蒸馏装置,依照安全规范操作酒精水溶液以及清洗液。

4.3.1.3 应用领域

此方法用液体比重天平法对酒精度进行测量。根据规定,试验温度应为 20℃。

4.3.1.4 原理和定义

该方法的原理是首先将按前述步骤对葡萄酒进行蒸馏。该步骤可以除去不挥发的物质。由于馏出物中有乙醇的同系物,因此酒精度包含了乙醇及其酯类的同系物。

其次,测定馏出物的密度。在给定温度下,液体的密度等于它的质量与体积比。 $\rho = m/V$,对于葡萄酒,单位为 g/mL。

葡萄酒的酒精度可以用液体比重天平进行测定。根据阿基米德定律,浸在液体中的任何物体,受到垂直向上的浮力,浮力的大小等于被该物体排开的液体的重力。

4.3.1.5 试剂

除非有另外的说明,只能使用分析纯的试剂,并使用符合 ISO 3696:1987 标准的三级水。

清洗浮动装置的溶液(0.3 g/mL 氢氧化钠溶液):将 30 g 氢氧化钠溶于 96%vol 的乙醇中,制备成 100 mL 溶液。

4.3.1.6 设备与材料

4.3.1.6.1 1 mg 精度的单盘液体比重天平。

4.3.1.6.2 与天平相符容量为 20 mL 的浮子,由直径小于或等于 0.1 mm 的线悬置。

4.3.1.6.3 带有刻度的试管。浮子必须完全没过试管的刻度,只有吊索线穿过液体的表面。试管内部刻度必须高于浮子 6 mm。

4.3.1.6.4 带有十分之一刻度的温度计(温度测定管),范围为 10℃~40℃,误差± 0.05℃。

4.3.1.6.5 有校准证书的称量设备

4.3.1.7 步骤

每次测量之后,浮子和试管必须用蒸馏水进行清洗,并用不掉纤维的实验室软纸擦拭,再用已知密度的液体进行润洗。待仪器稳定后立即进行测量以减少酒精的挥发。

4.3.1.7.1 天平校正

虽然天平通常都有内部校正,液体比重天平必须用官方部门认证砝码进行校正。

4.3.1.7.2 浮子校正

在试管中加入双蒸水或与之相当的纯净水(例如电阻率为 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 的微孔过滤水)至刻度,温度保持在 $15^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ 之间,最好为 20°C 。将浮子和温度计插入液体中,摇晃,记下仪器测得的密度,如果可以,调整读数让它等于该水温下的密度。

4.3.1.7.3 用乙醇-水溶液进行质控

在试管中加入已知浓度的乙醇-水溶液至刻度,温度保持在 $15^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ 之间,最好为 20°C 。将浮子和温度计插入液体中,摇晃,记下仪器测得的密度(或者酒精度)。测定的酒精度须等于已知的酒精度。

注:此溶液可用双蒸水来代替对浮子进行校正。

4.3.1.7.4 测定馏出物的容重(或者酒精度)

将试验样品倒入试管内至刻度。将浮子和温度计插入液体中,摇晃,记下仪器测得的密度(或酒精度)。如果密度测量时为 $t^\circ\text{C}(\bar{n}_t)$,记录下温度。

用水醇混合物的密度表格 \bar{n}_t [OIV-MA-AS02-01A 附录 B 表 B.2]来校正 \bar{n}_t 。

4.3.1.7.5 清洗浮子和试管

将浮子插入含有清洗液的试管中。浸泡 1 h,并时不时转动浮子。先用自来水再用蒸馏水清洗浮子。用不掉纤维的实验室软纸将浮子擦拭干净。

第一次使用浮子时或必要时请遵循上述步骤。

4.3.1.7.6 结果

根据 20°C 时水醇溶液的酒精度(% vol)与容重的对应表格,使用容重 \bar{n}_{20} ,计算实际的酒精度(国际法制计量组织 22 号建议采用本表)。

4.3.2 对比测试

用液体比重天平和电子密度计进行对比测试。

通过实验室间环形实验,完成了重复性和再现性试验。比较使用液体比重天平和电子密度仪来测定酒精度在 $4\% \text{ vol} \sim 18\% \text{ vol}$ 的不同葡萄酒样品,其中还包括了多年来大规模试验的重复性和再现性数据。

4.3.2.1 样品

以工业规模每月制备不同密度和酒精度的葡萄酒,在普通条件下以瓶装储存,并以匿名形式提供给实验室进行测试。

4.3.2.2 实验室

参与每月环形实验的实验室由意大利葡萄酒协会根据 ISO5725(UNI 9225)的规定和由 AOAC、ISO 和 IUPAC 建立的《化学分析实验室国际能力验证规则》,以及 ISO43 和 ILAC G13 指南来组织的。年度报告是由所有参与实验室提供。

4.3.2.3 设备

配有数据处理装置的电子液体比重天平(密度精度为小数点后第 5 位);



配有自动进样器的电子密度计。

4.3.2.4 结果

根据方法验证规定(决议 OENO 6/99),每个样品必须连续测定两次酒精度。

4.3.2.5 结果评价

4.3.2.5.1 根据国际公认程序[“Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies” Ed W Horwitz, Pure and Applied Chemistry, 1995, 67, (2), 331-343.],利用 Cochran 和 Grubb 检验相继对试验结果的个体误差进行了检查($p < 0.025$)。

4.3.2.5.2 重复性限(r)和再现性限(R):

在剔除异常值之后,利用余下数据对重复性限(r)和再现性限(R)进行计算。在评估一个新方法时,通常没有有效参考或法定方法来比较精密度。因此,将协同比对实验的准确数据与预估值进行比较非常实用。这些预估值是根据 Horwitz 公式计算得来的。试验结果与预估值的比较表明了此方法是否在测定的浓度水平上有足够的精度。

预估的 Horwitz 值可以用 Horwitz 公式进行计算

$$RSD_R = 2^{(1-0.51gc)}$$

此处 c 为分析物的浓度(用百分数表示,如:1 g/100 g=0.01)。

Horrat 值表示在特性浓度水平下分析物实测值的精度与通过 Horwitz 公式计算所得值精度的比。可以通过以下公式进行计算:

$$HoR = RSD_R(\text{实测}) / RSD_R(\text{Horwitz 公式计算})$$

4.3.2.5.3 实验室间精密度:

Horrat 值为 1 通常表明了实验室间的精密度令人满意,若此数值大于 2 则表明精确度不令人满意,即对于大多数的分析,其变化大或变化大于方法的预期。可以用下述公式来计算 Hor 近似值,并评估实验室内部的精密度:

$$RSD_r(\text{Horwitz}) = 0.66 RSD_R(\text{Horwitz}) (\text{假设近似值 } r = 0.66R)$$

实验结果与精密度参数见表 9~表 12,结果表明液体比重天平法与电子密度计法推测结果无显著差异。



表9 液体比重天平(HB)法结果汇总

日期	平均值	n	差异值	n ₁	r	S _r	RSD _r	H _{or}	R	S _R	RSD _R	H _{oR}	重复次数	CrD95
1999/1	11.043	17	1	16	0.057 1	0.020 4	0.184 6	0.100 4	0.157 9	0.056 4	0.510 7	0.18	2	0.108 0
1999/2	11.247	14	1	13	0.058 4	0.020 8	0.185 4	0.101 1	0.180 3	0.064 4	0.572 7	0.21	2	0.124 1
1999/3	11.946	16	0	16	0.040 5	0.014 5	0.121 1	0.066 6	0.159 3	0.056 9	0.476 4	0.17	2	0.110 8
1999/4	7.653	17	1	16	0.050 2	0.017 9	0.234 4	0.120 6	0.153 7	0.054 9	0.717 2	0.24	2	0.105 7
1999/5	11.188	17	0	17	0.087 1	0.031 1	0.278 0	0.151 5	0.270 1	0.096 5	0.862 2	0.31	2	0.186 0
1999/6	11.276	19	0	19	0.084 6	0.030 2	0.268 0	0.146 2	0.295 7	0.105 6	0.936 5	0.34	2	0.204 7
1999/7	8.018	17	0	17	0.089 0	0.031 8	0.396 4	0.205 4	0.257 3	0.091 9	1.146 2	0.39	2	0.176 4
1999/9	11.226	17	0	17	0.058 0	0.020 7	0.184 6	0.142 3	0.279 6	0.099 9	0.889 6	0.45	2	0.195 6
1999/10	11.026	17	0	17	0.060 6	0.021 6	0.196 1	0.106 6	0.265 1	0.094 7	0.858 8	0.31	2	0.185 0
1999/11	7.701	16	1	15	0.064 3	0.022 9	0.298 0	0.153 5	0.233 0	0.083 2	1.080 5	0.37	2	0.161 6
1999/12	10.987	17	2	15	0.065 5	0.023 4	0.212 8	0.115 6	0.125 8	0.044 9	0.408 9	0.15	2	0.082 7
2000/1	11.313	16	0	16	0.098 6	0.035 2	0.311 3	0.169 9	0.257 7	0.092 0	0.813 5	0.29	2	0.175 4
2000/2	11.232	17	0	17	0.085 9	0.030 7	0.273 1	0.148 9	0.253 5	0.090 5	0.806 0	0.29	2	0.174 0
2000/3	0.679	10	0	10	0.068 0	0.024 3	3.577 3	1.278 3	0.652 9	0.233 2	34.339 5	8.10	2	0.460 4
2000/4	11.223	18	0	18	0.070 9	0.025 3	0.225 7	0.123 0	0.218 4	0.078 0	0.695 1	0.25	2	0.150 3
2000/5	7.439	19	1	18	0.063 0	0.022 5	0.302 3	0.154 9	0.152 2	0.054 4	0.730 7	0.25	2	0.102 9
2000/6	11.181	19	0	19	0.053 6	0.019 1	0.171 0	0.093 2	0.278 3	0.099 4	0.889 0	0.32	2	0.195 0
2000/7	10.858	16	0	16	0.052 6	0.018 8	0.173 1	0.093 9	0.182 7	0.065 3	0.601 1	0.22	2	0.126 5
2000/9	12.031	17	1	16	0.060 2	0.021 5	0.178 7	0.098 5	0.244 7	0.087 4	0.726 3	0.26	2	0.170 4
2000/10	11.374	18	0	18	0.081 4	0.029 1	0.255 5	0.139 5	0.270 1	0.096 5	0.848 2	0.31	2	0.186 6



表 9(续)

日期	平均值	n	差异值	n_1	r	S_r	RSD _r	Hor	R	S_R	RSD _R	HoR	重复次数	CrD95
2000/11	7.644	18	0	18	0.082 7	0.029 5	0.386 3	0.198 8	0.228 9	0.081 7	1.069 4	0.36	2	0.156 5
2000/12	11.314	19	1	18	0.077 5	0.027 7	0.244 7	0.133 6	0.242 1	0.086 4	0.764 1	0.28	2	0.166 7
2001/1	11.415	19	0	19	0.095 0	0.033 9	0.297 1	0.162 3	0.241 0	0.086 1	0.753 9	0.27	2	0.163 6
2001/2	11.347	19	0	19	0.079 2	0.028 3	0.249 3	0.136 1	0.194 4	0.069 4	0.611 9	0.22	2	0.131 6
2001/3	11.818	16	0	16	0.065 9	0.023 5	0.199 0	0.109 3	0.263 6	0.094 1	0.796 5	0.29	2	0.183 4
2001/4	11.331	17	0	17	0.106 7	0.038 1	0.336 4	0.183 6	0.189 5	0.067 7	0.597 1	0.22	2	0.122 9
2001/5	8.063	19	1	18	0.078 2	0.027 9	0.346 5	0.179 7	0.190 6	0.068 1	0.844 2	0.29	2	0.129 0

表 10 电子密度计(ED)法结果汇总

日期	平均值	n	差异值	n_1	r	S_r	RSD _r	Hor	R	S_R	RSD _R	HoR	重复次数	CrD95
D1999/1	11.019	18	1	17	0.067 7	0.024 2	0.219 6	0.119 3	0.199 6	0.071 3	0.647 0	0.23	2	0.137 0
D1999/2	11.245	19	2	17	0.044 8	0.016 0	0.142 3	0.077 6	0.131 1	0.046 8	0.416 5	0.15	2	0.090 0
D1999/3	11.967	21	0	21	0.070 1	0.025 0	0.209 1	0.115 1	0.155 2	0.055 4	0.463 1	0.17	2	0.104 0
D1999/4	7.643	19	1	18	0.061 0	0.021 8	0.285 2	0.146 7	0.134 0	0.047 9	0.626 2	0.21	2	0.089 7
D1999/5	11.188	21	3	18	0.026 0	0.009 3	0.082 9	0.045 2	0.204 7	0.073 1	0.653 6	0.24	2	0.144 2
D1999/6	11.303	21	0	21	0.065 2	0.023 3	0.206 1	0.112 5	0.146 6	0.052 3	0.463 1	0.17	2	0.098 4
D1999/7	8.026	21	0	21	0.088 4	0.031 6	0.393 5	0.203 9	0.170 8	0.061 0	0.760 0	0.26	2	0.112 4
D1999/9	11.225	17	0	17	0.037 2	0.013 3	0.118 3	0.064 5	0.168 6	0.060 2	0.536 6	0.19	2	0.117 8
D1999/10	11.011	19	0	19	0.091 5	0.032 7	0.296 9	0.161 3	0.172 3	0.061 5	0.558 8	0.20	2	0.112 9



表 10(续)

日期	平均值 \bar{m}_1	n	差异值	n_1	r	S_r	RSD _r	H _{or}	R	S_R	RSD _R	HoR	重复次数	CrD95
D1999/11	7.648	21	1	20	0.061 5	0.022 0	0.287 2	0.147 8	0.153 8	0.054 9	0.718 3	0.24	2	0.104 3
D1999/12	10.999	16	1	15	0.042 8	0.015 3	0.138 9	0.075 5	0.201 5	0.072 0	0.654 1	0.23	2	0.140 8
D2000/1	11.248	22	1	21	0.069 7	0.024 9	0.221 2	0.120 6	0.142 2	0.050 8	0.451 6	0.16	2	0.094 4
D2000/2	11.240	19	3	16	0.044 8	0.016 0	0.142 4	0.077 6	0.161 9	0.057 8	0.514 5	0.19	2	0.112 3
D2000/3	0.526	12	1	11	0.032 7	0.011 7	2.218 5	0.763 0	0.934 4	0.333 7	63.400 9	14.39	2	0.660 5
D2000/4	11.225	19	1	18	0.047 6	0.017 0	0.151 4	0.082 5	0.135 0	0.048 2	0.429 5	0.15	2	0.092 4
D2000/5	7.423	21	0	21	0.062 8	0.022 4	0.301 9	0.154 7	0.263 5	0.094 1	1.267 7	0.43	2	0.183 6
D2000/6	11.175	23	2	21	0.060 6	0.021 7	0.193 8	0.105 6	0.169 7	0.060 6	0.542 4	0.20	2	0.116 1
D2000/7	10.845	21	5	16	0.044 0	0.015 7	0.144 9	0.078 6	0.144 7	0.051 7	0.476 6	0.17	2	0.099 9
D2000/9	11.983	22	1	21	0.084 1	0.030 0	0.250 7	0.138 0	0.241 0	0.086 1	0.718 3	0.26	2	0.165 1
D2000/10	11.356	22	1	21	0.063 5	0.022 7	0.199 7	0.109 0	0.186 5	0.066 6	0.586 6	0.21	2	0.128 0
D2000/11	7.601	27	0	27	0.052 1	0.018 6	0.244 8	0.125 8	0.168 5	0.060 2	0.791 6	0.27	2	0.116 2
D2000/12	11.322	25	1	24	0.047 6	0.017 0	0.150 3	0.082 0	0.159 4	0.056 9	0.502 8	0.18	2	0.110 2
D2001/1	11.427	29	0	29	0.070 6	0.025 2	0.220 7	0.120 6	0.152 6	0.054 5	0.477 1	0.17	2	0.102 0
D2001/2	11.320	29	1	28	0.067 5	0.024 1	0.212 8	0.116 1	0.157 0	0.056 1	0.495 2	0.18	2	0.105 7
D2001/3	11.826	34	1	33	0.048 9	0.017 5	0.147 6	0.081 1	0.176 2	0.062 9	0.532 2	0.19	2	0.122 2
D2001/4	11.339	31	2	29	0.063 9	0.022 8	0.201 2	0.109 9	0.152 0	0.054 3	0.478 8	0.17	2	0.102 6
D2001/5	8.058	28	0	28	0.047 3	0.016 9	0.209 8	0.108 8	0.202 5	0.072 3	0.897 6	0.31	2	0.141 2

表 11 液体比重天平与电子密度计结果的比较

日期	平均值(HB)	<i>n</i>	差异值	<i>n</i> ₁	日期	平均值(ED)	<i>n</i>	差异值	<i>n</i> ₁	ΔTA
1999/1	11.043	17	1	16	D1999/1	11.019	18	1	17	
1999/2	11.247	14	1	13	D1999/2	11.245	19	2	17	
1999/3	11.946	16	0	16	D1999/3	11.967	21	0	21	
1999/4	7.653	17	1	16	D1999/4	7.643	19	1	18	
1999/5	11.188	17	0	17	D1999/5	11.188	21	3	18	
1999/6	11.276	19	0	19	D1999/6	11.303	21	0	21	
1999/7	8.018	17	0	17	D1999/7	8.026	21	0	21	
1999/9	11.226	17	0	17	D1999/9	11.225	17	0	17	
1999/10	11.026	17	0	17	D1999/10	11.011	19	0	19	
1999/11	7.701	16	1	15	D1999/11	7.648	21	1	20	
1999/12	10.987	17	2	15	D1999/12	10.999	16	1	15	
2000/1	11.313	16	0	16	D2000/1	11.248	22	1	21	
2000/2	11.232	17	0	17	D2000/2	11.240	19	3	16	
2000/3	0.679	10	0	10	D2000/3	0.526	12	1	11	
2000/4	11.223	18	0	18	D2000/4	11.225	19	1	18	
2000/5	7.439	19	1	18	D2000/5	7.423	21	0	21	
2000/6	11.181	19	0	19	D2000/6	11.175	23	2	21	
2000/7	10.858	16	0	16	D2000/7	10.845	21	5	16	
2000/9	12.031	17	1	16	D2000/9	11.983	22	1	21	
2000/10	11.374	18	0	18	D2000/10	11.356	22	1	21	
2000/11	7.644	18	0	18	D2000/11	7.601	27	0	27	
2000/12	11.314	19	1	18	D2000/12	11.322	25	1	24	
2001/1	11.415	19	0	19	D2001/1	11.427	29	0	29	
2001/2	11.347	19	0	19	D2001/2	11.320	29	1	28	
2001/3	11.818	16	0	16	D2001/3	11.826	34	1	33	
2001/4	11.331	17	0	17	D2001/4	11.339	31	2	29	
2001/5	8.063	19	1	18	D2001/5	8.058	28	0	28	
平均差值 ΔTAV(HB-ED)										
标准偏差未包含 2000 年 3 月的测试结果。										



表 12 精密度参数

平均值	液体比重天平	电子密度计
n_1	441	557
称重重复性偏差	0.309	0.267
r	0.074	0.061
S_r	0.026	0.022
称重再现性偏差	2.948	2.150
R	0.229	0.174
S_R	0.082	0.062

4.3.2.6 结论

结果显示,利用液体比重天平法确定葡萄酒的酒精度与利用电子密度计得出的结论一致,两种方法的验证参数非常相似。



附录 A

葡萄酒酒精度的计算实例

A.1 双盘天平比重测定法

按 OIV-MA-AS2-01A“密度和相对密度”中列出的方法确定并计算比重瓶的常数。

A.1.1 装满馏出物的比重瓶质量

$$\begin{aligned} \text{皮重} &= \text{比重瓶} + t^{\circ}\text{C 时的馏出物} + p'' \left\{ \begin{array}{l} t^{\circ}\text{C} = 18.90^{\circ}\text{C} \\ t^{\circ}\text{C 修正} = 18.70^{\circ}\text{C} \\ p'' = 2.8074 \text{ g} \end{array} \right. \\ p + m - p'' &= t^{\circ}\text{C 时的馏出物质量} \quad \{ 105.0698 - 2.8074 = 102.2624 \text{ g} \\ t^{\circ}\text{C 时的表观密度:} & \end{aligned}$$

$$\rho_t = \frac{p + m - p''}{20^{\circ}\text{C 时比重瓶的质量}} \quad \left\{ \rho_{18.7^{\circ}\text{C}} = \frac{102.2624}{104.0229} = 0.983076 \right.$$

A.1.2 计算酒精度

根据上面提到的水-乙醇混合物不同温度下表观密度表:

表观密度表中,在 18°C 时,大于表观密度 0.983076 g/mL,最小的是对应酒精度为 11% 列中的 0.98398 g/mL。
18°C 时的密度为: $(98307.6 + 0.7 \times 22)10^{-5} = 0.98323$
 $0.98398 - 0.98323 = 0.00075$
酒精体积分数(酒精度)的小数部分为: $75/114 = 0.65$
酒精体积分数(酒精度)为: 11.65% vol

A.2 单盘天平比重测定

按照 OIV-MA-AS2-01A“密度和比重”中的方法确定并计算比重瓶的常数。

A.2.1 装满馏出物的比重瓶质量

$$\text{称量参比瓶的质量(g):} \quad T_1 = 171.9178$$

$$\text{称量 } 20.5^{\circ}\text{C 时装满馏出物的比重瓶质量(g):}$$

$$P_2 = 167.8438$$

$$\text{空气作用下的变化量: } d_T = 171.9178 - 171.9160$$

$$= +0.0018$$

$$20.50^{\circ}\text{C 时馏出物的质量:} \quad L_t = 167.8438 - (67.6695 + 0.0018)$$

$$= 100.1725$$

$$\text{馏出物的表观密度: } \rho_{20.50^{\circ}\text{C}} = \frac{100.1725}{101.8194} = 0.983825$$

A.2.2 计算酒精度

根据上面提到的水-乙醇混合物不同温度下表观密度表:

表观密度表中,在 20°C 时,大于表观密度 0.983825 g/mL,最小的是对应酒精度为 10% 列中的 0.98471 g/mL,
20°C 时的密度为: $(98382.5 + 0.5 \times 24)10^{-5} = 0.983945$
 $0.98471 - 0.983945 = 0.000765$
酒精体积分数的小数部分为: $76.5/119 = 0.64$
酒精体积分数为: 10.64% vol

附录 B

乙醇-水混合物酒精度的计算公式

密度“ ρ ”的单位是 kg/m^3 ，是温度 $t^\circ\text{C}$ 下乙醇-水混合物的密度。其计算公式如下：
方程式适用于温度在 $-20^\circ\text{C} \sim +40^\circ\text{C}$ 之间的密度计算。

$$\rho = A_1 + \sum_{k=2}^{12} A_k p^{k-1} + \sum_{k=1}^6 B_k (t-20^\circ\text{C})^k + \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^m C_{i,k} P^{k(t-20^\circ\text{C})^i}$$

$n=5$
 $m_1=11$
 $m_2=10$
 $m_3=9$
 $m_4=4$
 $m_5=2$

- 单位质量分数 P ，用小数表示*；
- 温度 t ，用 $^\circ\text{C}$ 表示(EIPT68)；
- A 、 B 、 C 为系数。

公式中的系数见表 B. 1。

表 B. 1

k	A_k kg/m^3	B_k $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^\circ\text{C})$
1	$9.982\ 012\ 300 \times 10^2$	$2.061\ 851\ 3 \times 10^{-1}$
2	$1.929\ 769\ 495 \times 10^2$	$5.268\ 254\ 2 \times 10^{-3}$
3	$3.891\ 238\ 958 \times 10^2$	$3.613\ 001\ 3 \times 10^{-5}$
4	$1.668\ 103\ 923 \times 10^3$	$3.895\ 770\ 2 \times 10^{-7}$
5	$1.352\ 215\ 441 \times 10^4$	$7.169\ 354\ 0 \times 10^{-9}$
6	$8.829\ 278\ 388 \times 10^4$	$9.973\ 923\ 1 \times 10^{-11}$
7	$3.062\ 874\ 042 \times 10^5$	
8	$6.138\ 381\ 234 \times 10^5$	
9	$7.470\ 172\ 998 \times 10^5$	
10	$5.478\ 461\ 354 \times 10^5$	
11	$2.234\ 460\ 334 \times 10^5$	
12	$3.903\ 285\ 426 \times 10^4$	

* 例如：12%的单位质量分数 $P=0.12$ 。

表 B.2

k	$C_{1,k}/[\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^\circ\text{C})]$	$C_{2,k}/[\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^\circ\text{C})]$
1	$1.693\ 443\ 461530\ 087 \times 10^{-1}$	1.193 013 005 057
2	$1.046\ 914\ 743\ 455\ 169 \times 10^1$	2.517 399 633 803 46
3	$7.196\ 353\ 469\ 546\ 523 \times 10^1$	2.170 575 700 536 993
4	$7.047\ 478\ 054\ 272\ 792 \times 10^2$	1.353 034 988 843
5	$3.924\ 090\ 430\ 035\ 045 \times 10^3$	5.029 988 758 547
6	$1.210\ 164\ 659\ 068\ 747 \times 10^4$	1.096 355 666 577
7	$2.248\ 646\ 550\ 400\ 788 \times 10^4$	1.422 753 946 421
8	$2.605\ 562\ 982\ 188\ 164 \times 10^4$	1.080 435 942 856
9	$1.852\ 373\ 922\ 069\ 467 \times 10^4$	4.414 153 236 817
10	$7.420\ 201433\ 430\ 137 \times 10^3$	7.442 971 530 188 783
11	$1.285\ 617\ 841\ 998\ 974 \times 10^3$	

表 B.3

k	$C_{3,k}/[\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^\circ\text{C})]$	$C_{4,k}/[\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^\circ\text{C})]$	$C_{5,k}/[\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot ^\circ\text{C})]$
1	6.802 995 733 503	4.075 376 675 622	2.788 074 354 782
2	1.876 837 790 289	8.763 058 573 471	1.345 612 883 493
3	2.002 561 813 734	6.515 031 360 099	
4	1.022 992 966 719 220	1.515 784 836 987	
5	2.895 696 483 903 638		
6	4.810 060 584 300 675		
7	4.672 147 440 794 683		
8	2.458 043 105 903 461		
9	5.411 227 621 436		

参 考 文 献

- [1] OIV, 1990. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, (Compendium of international methods of analysis of wine and musts) Office International de la Vigne et du Vin ; Paris.
- [2] ISO 5725, page 7.
- [3] F. V. n. 1096; Cabanis Marie-Thérèse, Cassanas Geneviève, Raffy Joëlle, Cabanis J. C., 1999; Validation de la mesure du titre alcoolométrique volumique.
- [4] Cabanis Marie-Thérèse, Cassanas Geneviève, Raffy Joëlle, Cabanis J. C., 1999; Intérêt de la balance hydrostatique "nouvelle génération" pour la détermination du titre alcoométrique des vins et des boissons spiritueuses. Rev. Fran. nol., 177/juillet-août, 28-31.
- [5] Versini G., Larcher R., 2002; Comparison of wine density and alcoholic strength measurement by hydrostatic balance and electronic density-meter. Communication at the OIV Sub-commission of analytical methods, Paris, 13-15 March 2002.
- [6] OIV, Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, Office International de la Vigne et du Vin; Paris.
- [7] 'International Protocol of Proficiency test for chemical analysis laboratories', J. AOAC Intern., 1993, 74/4.
- [8] normes ISO 5725 et guides ISO 43.
- [9] resolution Oeno 6/99.
- [10] Horwitz W., 1995. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, Pure and Applied Chemistry, 67/2, 331-343.
- [11] HANAK A. Chem. Zgt. 1932. 56. 984.
- [12] COLOMBIER L. . CLAIR E. . Ann. Fals. Fraudes. 1936. 29. 411.
- [13] POZZI-ESCOT E. . Ind. Agr. Aliment. . 1949. 66. 119.
- [14] JAULMES P. . Analyse des vins. 1951. 49.
- [15] SCHNEYDER J. . Mitt. Klosterneuburg. Rebe und Wein. 1960. 10. 228.
- [16] SCHNEYDER J. . KASCHNITZ L. . Mitt. Klosterneuburg. Rebe und Wein. 1965. 15. 132.
- [17] JAULMES P. . Analyse des vins. 1951. 67.
- [18] JAULMES P. . Trav. Soc. Pharm. Montpellier. 1952. 12. 154.
- [19] JAULMES P. . Ann. Fals. Fraudes. 1953. 46. 84; 1954. 47. 191.
- [20] JAULMES P. . CORDIER Mlle S. . Trav. Soc. Pharm. Montpellier. 1956. 16. 115; 1960. 20. 137.
- [21] JAULMES P. . BRUN Mme S. . Ann. Fals. Exp. Chim. . 1963. 56. 129.
- [22] TABLES ALCOOMETRIQUES FRANCAISES. J. O. Républ. française. 30 déc. 1884. 6895.
- [23] WINDISCH K. . d'après LUNGE G. . BERL E. . Chem. techn. Untersuchungs Methoden.
- [24] Berlin 1924. 7e éd. . 1893. 4. 274.
- [25] OSBORNE N. S. . MCKELVY E. C. . BEARCE H. W. . Bull. Bur. of Standards. Washington. 1913. 9. 328.
- [26] FROST A. V. . Recherches dans le domaine du poids spécifique des mélanges d'alcool éthylique et d'eau. Institut des réactifs chimiques purs. U. R. S. S. . 1930. No. 9. d'après J. SPAEPEN.
- [27] HEIDE C. von der. MANDLEN H. . Z. Untersuch. Lebensm. . 1933. 66. 338.
- [28] KOYALOVICS B. . 8e Conférence générale des Poids et Mesures. Moscou 1933.
- [29] FERTMANN G. I. . Tables de renseignements pour le contrôle de la fabrication de l'alcool. Pischerpoomizdat, Moscou 1940.
- [30] REICHARD O. . Neue Alkohol u. Extract. . Tafel 20°/20°. Verlag Hans Carl, Nürnberg 1951.



- [31] JAULMES P. . MARIGNAN R. . Ann. Fals. Fraudes. 1953. 46. 208 et 336.
- [32] SPAEPEN J. . Rev. de Métrologie. 1955. 411; Bull. belge de Métrologie. 1955. numéro d'avril.
- [33] JAULMES P. . BRUN Mme S. . Ann. Fals. Exp. Chim. . 1963. 46. 143; 1965. 48. 58; 1966. 49. 35; 1967. 50. 101-147; Trav. Soc. Pharm. Montpellier. 1966. 26. 37 et 111.
- [34] JAULMES P. . MARIGNAN R. . Bull. O. I. V. . 1953. 274. 28. 32.
- [35] JAULMES P. . BRUN Mme S. . TEP Y. . Trav. Soc. Pharm. . 1968. 28. 111.
- [36] KAWASAKI T. . MINOVA Z. . INAMATSU T. . A new alcohometric specific gravity table. National Research of Metrology. Tokio 1967.
- [37] TEP Y. . Etude d'une table alcoométrique international.

酒精度(液体比重法、折射法)

(决议 Oeno 377/2009)

1 定义

酒精体积分数(简称酒精度或酒度)是 20℃ 时 100 L 葡萄酒中含有的乙醇的体积分数,用 %vol 表示。

注:由于馏出物中有乙醇的同系物,因此酒精度包含了乙醇及其酯类的同系物。

2 方法原理

用氢氧化钙碱化葡萄酒测定馏出物的酒精浓度。

一般有如下两种方法:

- a) 用液体比重计测定馏出物的酒精浓度。
- b) 用折光计测定馏出物的酒精浓度。

3 蒸馏物提取

3.1 设备

3.1.1 蒸馏装置,包括:

- 容量为 1 L 的圆底烧瓶。
- 约 20 cm 长的精馏柱或相似的冷凝管。
- 加热源;用适当的设施防止试液热解。
- 底部管子渐细的冷凝器将馏出物接收在底部有几毫升水的带刻度的小烧瓶中。

3.1.2 水蒸气蒸馏装置,包括:

- 水蒸气发生器。
- 蒸汽管。
- 精馏柱。
- 冷凝器。

只要符合下述要求,所有类型的蒸馏装置或水蒸气蒸馏装置都可以使用:

连续 5 次蒸馏酒精度为 10%vol 的乙醇-水混合物。第 5 次蒸馏后,馏出物的酒精度最低为 9.9%,即在蒸馏过程中,酒精的损失量不得大于 0.02%。

3.2 试剂

2 mol/L 氢氧化钙悬浮液:在 120 g 生石灰(氧化钙)中加入 1 L 60℃~70℃ 热水。

3.3 样品预处理

将 250 mL~300 mL 葡萄酒或起泡酒加入到 1 000 mL 的烧瓶中摇动,最大限度地去除二氧化碳。

3.4 步骤

用容量瓶量取 200 mL 葡萄酒,记录葡萄酒温度。



将葡萄酒移入圆底烧瓶中,每次用5 mL水清洗容量瓶清洗四次,加入到烧瓶中。蒸馏时加入10 mL 2 mol/L 氢氧化钙悬浮液和一些惰性多孔材料(沸石等),用200 mL的容量瓶接收馏出物,待测量。

蒸馏时收集初始体积的四分之三;水蒸气蒸馏时收集约198 mL~199 mL馏出物。

加入蒸馏水至200 mL,馏出物的温度和原溶液温度差应小于2℃。

小心混匀。

注:如果葡萄酒中含有大量氨离子,用1 mL体积分数为10%的硫酸代替氢氧化钙,按照上述条件重新蒸馏。

4 用液体比重计或折光计来测定馏出物的酒精度

4.1 比重计

4.1.1 仪器

——酒精比重计。

酒精比重计应符合OIML(国际法定计量组织)第44号国际建议对“酒精比重计”1级、2级仪器的要求。

——温度计的刻度为0.1℃,测量范围为0℃~40℃,精确到0.05℃。

——测试用量筒,内径为36 mm,高为320 mm,用夹架固定,保持垂直。

4.1.2 步骤

将(3.4)馏出物倒入量筒内,使量筒完全竖直,插入温度计和酒精比重计。摇动,使量筒、温度计、酒精比重计和馏出物的温度一致。1 min后读取温度计值 $t^{\circ}\text{C}$ 。过1 min后移去温度计,读取酒精度值。用放大镜至少读取3次,利用表II校正 $t^{\circ}\text{C}$ 时读取的酒精度值。

液体的温度与室温不能相差太大(最大不超过5℃)。

4.2 折光计

4.2.1 仪器

可测量1.330~1.346间的折射率的折光计。

根据仪器类型,测量包括:

——在20℃时使用适当的仪器;

——室温为 $t^{\circ}\text{C}$ 时,能准确测定至0.05℃的温度计。使用所提供的温度校正表来校正温度。

4.2.2 步骤

按照仪器规定的测量方法测定3.3中得到葡萄酒馏出物的折射率。

4.2.3 结果表示

根据20℃的折射率查表4得到酒精度。

注:表4给出了折射率与水-酒精混合物和葡萄酒的酒精度之间的关系。对于葡萄酒的馏出物,其中的杂质(主要是高级醇)会影响结果。甲醇的存在会导致折射率降低,从而使酒精度值降低。

注:可使用本章节中的表1、表2和表3,根据馏出物的密度得到酒精度。表中的数据是根据国际法定计量组织1972年出版的第22号刊物中国际酒精表计算出来的。经被OIV1974年全体成员大会通过。

表 1 20℃ 的国际酒精度表
 $t^{\circ}\text{C}$ 时玻璃比重瓶法测定酒精-水混合物的表观密度表(密度已经空气浮力校正)。

温度/ $^{\circ}\text{C}$	酒精体积分数/%																			
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									
0	999.64	1.50998.14	1.44996.70	1.40	995.30	1.35	993.95	1.30	992.65	1.24	991.41	1.19	990.22	1.14	989.08	1.10	987.98	1.05	986.93	1.00
	-0.07	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.05	-0.04	-0.04	-0.04	-0.03	-0.03	-0.02	-0.02
1	999.71	1.51998.20	1.44996.76	1.40	995.36	1.35	994.01	1.30	992.71	1.24	991.47	1.20	990.27	1.15	989.12	1.11	988.01	1.06	986.95	1.01
	-0.05	-0.05	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.03	-0.03	-0.03	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.01	-0.01	-0.01
2	999.76	1.51998.25	1.45996.80	1.40	995.40	1.35	994.05	1.30	992.75	1.25	991.50	1.20	990.30	1.16	989.14	1.11	988.03	1.07	986.96	1.02
	-0.03	-0.03	4.03	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00	0.01	0.01
3	999.79	1.51998.28	1.45996.83	1.41	995.42	1.35	994.07	1.30	992.77	1.25	991.52	1.21	990.31	1.16	989.15	1.12	988.03	1.08	986.95	1.03
	-0.02	-0.02	-0.01	-0.02	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03
4	999.81	1.51998.30	1.46996.84	1.40	995.44	1.36	994.08	1.30	992.78	1.26	991.52	1.21	990.31	1.17	989.14	1.13	988.01	1.09	986.92	1.04
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.04	0.04
5	999.81	1.51998.30	1.46996.84	1.40	995.44	1.37	994.07	1.31	992.76	1.26	991.50	1.21	990.29	1.17	989.12	1.14	987.98	1.10	986.88	1.05
	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03	0.03	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
6	999.80	1.51998.29	1.46996.83	1.41	995.42	1.36	994.06	1.32	992.74	1.27	991.47	1.22	990.25	1.18	989.07	1.14	987.93	1.10	986.83	1.06
	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.06	0.06	0.07	0.07	0.08	0.08
7	999.77	1.51998.26	1.46996.80	1.41	995.39	1.37	994.02	1.32	992.70	1.27	991.43	1.23	990.20	1.19	989.01	1.15	987.86	1.11	986.75	1.07
	0.05	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.08	0.08
8	999.72	1.50998.22	1.46996.76	1.42	995.34	1.37	993.97	1.32	992.65	1.27	991.38	1.24	990.14	1.19	988.95	1.16	987.79	1.12	986.67	1.08
	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.09	0.10	0.10	0.10
9	999.67	1.51998.16	1.46996.70	1.42	995.28	1.37	993.91	1.32	992.59	1.28	991.31	1.24	990.07	1.20	988.87	1.17	987.70	1.13	986.57	1.09
	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	0.10	0.10	0.11	0.11



表1(续)

温度/ °C	酒精体积分数/%																			
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									
10	999.60	1.51998.09	1.46996.63	1.42	995.21	1.37	993.84	1.33	992.51	1.28	991.23	1.25	989.98	1.20	988.78	1.17	987.60	1.14	986.46	1.10
	0.09	0.09	0.09	0.08	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12
11	999.51	1.51998.00	1.46996.54	1.41	995.13	1.38	993.75	1.33	992.42	1.29	991.13	1.25	989.88	1.21	988.67	1.18	987.49	1.15	986.34	1.11
	0.10	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13
12	999.41	1.50997.91	1.46996.45	1.42	995.03	1.38	993.65	1.34	992.31	1.29	991.02	1.25	989.77	1.22	988.55	1.19	987.36	1.15	986.21	1.12
	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12	0.13	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15
13	999.30	1.50997.80	1.46996.34	1.42	994.92	1.38	993.54	1.34	992.20	1.30	990.90	1.25	989.65	1.23	988.42	1.20	987.22	1.16	986.06	1.13
	0.12	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16
14	999.18	1.50997.68	1.46996.22	1.43	994.79	1.38	993.41	1.34	992.07	1.30	990.77	1.26	989.51	1.23	988.28	1.21	987.07	1.17	985.90	1.13
	0.14	0.14	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.18	0.18
15	999.05	1.51997.54	1.46996.08	1.42	994.66	1.38	993.28	1.35	991.93	1.30	990.63	1.27	989.36	1.24	988.12	1.21	986.91	1.18	985.73	1.14
	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.19	0.19
16	998.90	1.50997.40	1.46995.94	1.43	994.51	1.38	993.13	1.35	991.78	1.31	990.47	1.27	989.20	1.25	987.95	1.21	986.74	1.19	985.55	1.15
	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20
17	998.74	1.50997.24	1.46995.78	1.43	994.35	1.38	992.97	1.36	991.61	1.31	990.30	1.28	989.02	1.25	987.77	1.22	986.55	1.19	985.36	1.16
	0.17	0.17	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.22
18	998.57	1.50997.07	1.46995.61	1.42	994.19	1.39	992.80	1.36	991.44	1.32	990.12	1.28	988.84	1.26	987.58	1.23	986.35	1.20	985.15	1.17
	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
19	998.39	1.50996.89	1.46995.43	1.43	994.00	1.39	992.61	1.36	991.25	1.32	989.93	1.29	988.64	1.26	987.38	1.23	986.15	1.21	984.94	1.10
	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.24	0.24



表 1(续)

温度 / ℃	酒精体积分数 / %																			
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									
20	998.20	1.50996.70	1.46995.24	1.43	993.81	1.39	992.42	1.36	991.06	1.33	989.73	1.29	988.44	1.27	987.17	1.24	985.93	1.22	984.71	1.19
	0.20	0.20	0.20		0.20		0.21		0.21		0.21		0.22		0.22		0.23		0.24	
21	998.00	1.50996.50	1.46995.04	1.43	993.61	1.40	992.21	1.36	990.85	1.33	989.52	1.30	988.22	1.27	986.95	1.25	985.70	1.23	984.47	1.19
	0.21	0.21	0.21		0.21		0.21		0.22		0.22		0.23		0.24		0.24		0.24	
22	997.79	1.50996.29	1.46994.83	1.43	993.40	1.40	992.00	1.37	990.63	1.33	989.30	1.31	987.99	1.28	986.71	1.25	985.46	1.23	984.23	1.21
	0.22	0.22	0.23		0.23		0.23		0.23		0.24		0.24		0.24		0.25		0.26	
23	997.57	1.50996.07	1.47994.60	1.43	993.17	1.40	991.77	1.37	990.40	1.34	989.06	1.31	987.75	1.28	986.47	1.26	985.21	1.24	983.97	1.20
	0.24	0.23	0.23		0.23		0.24		0.24		0.24		0.25		0.26		0.26		0.27	
24	997.33	1.49995.94	1.47994.37	1.43	992.94	1.41	991.53	1.37	990.16	1.34	988.82	1.32	987.50	1.29	986.21	1.26	984.95	1.25	983.70	1.22
	0.24	0.25	0.24		0.25		0.24		0.25		0.26		0.26		0.26		0.27		0.28	
25	997.09	1.50995.59	1.46994.13	1.44	992.69	1.40	991.29	1.38	989.91	1.35	988.56	1.32	987.24	1.29	985.95	1.27	984.68	1.26	983.42	1.22
	0.25	0.25	0.26		0.25		0.26		0.26		0.26		0.26		0.28		0.28		0.28	
26	996.84	1.50995.34	1.47993.87	1.43	992.44	1.41	991.03	1.38	989.65	1.35	988.30	1.32	986.98	1.31	985.67	1.27	984.40	1.26	983.14	1.24
	0.26	0.26	0.26		0.27		0.27		0.27		0.27		0.28		0.28		0.29		0.30	
27	996.58	1.50995.68	1.47993.61	1.44	992.17	1.41	990.76	1.38	989.38	1.35	988.03	1.33	986.70	1.31	985.39	1.28	984.11	1.27	982.84	1.24
	0.27	0.27	0.27		0.27		0.28		0.28		0.29		0.29		0.29		0.30		0.31	
28	996.31	1.50994.81	1.47993.34	1.44	991.90	1.42	990.48	1.38	989.10	1.36	987.74	1.33	986.41	1.31	985.10	1.29	983.81	1.28	982.53	1.25
	0.28	0.28	0.28		0.29		0.28		0.29		0.29		0.30		0.31		0.31		0.31	
29	996.03	1.50994.53	1.47993.06	1.45	991.61	1.41	990.20	1.39	988.81	1.36	987.45	1.34	986.11	1.32	984.79	1.29	983.50	1.28	982.22	1.26
	0.28	0.29	0.29		0.29		0.30		0.30		0.31		0.31		0.31		0.32		0.32	



表1(续)

温度/ °C	酒精体积分数/%																		
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10								
30	995.75	1.51994,241.47992,77	1.45	991.32	1.42	989.90	1.39	988.51	1.37	987.14	1.34	985.80	1.32	984.48	1.30	983.18	1.28	981.90	1.27
	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.33	0.34	0.34
31	995.45	1.51993,941.47992,47	1.45	991.02	1.43	989.59	1.39	988.20	1.37	986.83	1.34	985.49	1.33	984.16	1.31	982.85	1.29	981.56	1.27
	0.31	0.31	0.31	0.32	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.35	0.35	0.35
32	995.14	1.51993,631.47992,16	1.46	990.70	1.42	989.28	1.40	987.88	1.37	986.51	1.35	985.16	1.33	983.83	1.32	982.51	1.30	981.21	1.28
	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
33	994.93	1.51993,321.48991,84	1.46	990.38	1.42	988.96	1.41	987.55	1.37	986.18	1.36	984.82	1.34	983.48	1.32	982.16	1.30	980.86	1.28
	0.32	0.33	0.33	0.33	0.35	0.35	0.35	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.34	0.34	0.35	0.35	0.36	0.36
34	994.51	1.52992,991.48991,51	1.46	990.05	1.44	988.61	1.40	987.21	1.38	985.83	1.36	984.47	1.33	983.14	1.33	981.81	1.31	980.50	1.29
	0.33	0.33	0.34	0.35	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
35	994.18	1.52992,661.49991,17	1.47	989.70	1.43	988.27	1.41	986.86	1.38	985.48	1.36	984.12	1.34	982.78	1.33	981.45	1.31	980.14	1.30
	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
36	993.84	1.53992,311.49990,82	1.47	989.35	1.43	987.92	1.41	986.51	1.38	985.13	1.37	983.76	1.34	982.42	1.34	981.08	1.31	979.77	1.31
	0.35	0.35	0.36	0.35	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.37	0.37	0.39	0.39
37	993.49	1.53991,961.50990,46	1.46	989.00	1.44	987.56	1.41	986.15	1.39	984.76	1.37	983.39	1.35	982.04	1.33	980.71	1.33	979.38	1.31
	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.38	0.38
38	993.13	1.53991,601.50990,10	1.47	988.63	1.44	987.19	1.41	985.78	1.39	984.39	1.37	983.02	1.36	981.66	1.34	980.32	1.32	979.00	1.32
	0.36	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40
39	992.77	1.54991,231.50989,73	1.47	988.26	1.45	986.81	1.41	985.40	1.39	994.01	1.38	982.63	1.35	981.28	1.35	979.93	1.33	978.60	1.32
	0.37	0.37	0.38	0.39	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.39	0.39	0.40	0.40
40	992.40	1.54990,861.51989,35	1.48	987.87	1.44	986.43	1.42	985.01	1.39	983.62	1.38	982.24	1.36	980.88	1.34	979.54	1.34	978.20	1.33



表 1(续)

温度 ℃	酒精体积分数/%																																								
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20																					
0	985.93	984.98	984.06	983.18	982.34	981.54	980.76	980.01	979.28	978.56	0.95	0.92	0.88	0.84	0.80	0.78	0.75	0.73	0.72	0.70	985.93	984.98	984.06	983.18	982.34	981.54	980.76	980.01	979.28	978.56	0.95	0.92	0.88	0.84	0.80	0.78	0.75	0.73	0.72	0.70	
1	995.94	984.97	984.05	983.15	982.30	981.47	980.68	979.91	979.16	978.42	-0.01	0.01	0.01	0.03	0.04	0.07	0.10	0.12	0.14	0.14	0.14	995.94	984.97	984.05	983.15	982.30	981.47	980.68	979.91	979.16	978.42	0.97	0.92	0.90	0.85	0.83	0.79	0.77	0.75	0.74	0.73
2	985.94	984.96	984.02	983.11	982.23	981.39	980.58	979.79	979.02	978.26	0.00	0.01	0.03	0.04	0.07	0.08	0.10	0.12	0.14	0.16	0.16	985.94	984.96	984.02	983.11	982.23	981.39	980.58	979.79	979.02	978.26	0.98	0.94	0.91	0.88	0.84	0.81	0.79	0.77	0.76	0.75
3	985.92	984.92	983.97	983.05	982.16	981.30	980.47	979.66	978.87	978.09	0.02	0.04	0.05	0.06	0.07	0.09	0.11	0.13	0.15	0.17	0.17	985.92	984.92	983.97	983.05	982.16	981.30	980.47	979.66	978.87	978.09	1.00	0.95	0.92	0.89	0.86	0.83	0.81	0.79	0.78	0.77
4	985.88	984.88	983.91	982.98	982.07	981.20	980.35	979.52	978.71	977.91	0.04	0.04	0.06	0.07	0.09	0.10	0.12	0.14	0.16	0.18	0.18	985.88	984.88	983.91	982.98	982.07	981.20	980.35	979.52	978.71	977.91	1.00	0.97	0.93	0.91	0.87	0.85	0.83	0.81	0.80	0.79
5	985.83	984.82	983.84	982.89	981.97	981.08	980.21	979.37	978.54	977.72	0.05	0.06	0.07	0.09	0.10	0.12	0.14	0.15	0.17	0.19	0.19	985.83	984.82	983.84	982.89	981.97	981.08	980.21	979.37	978.54	977.72	1.01	0.98	0.95	0.92	0.89	0.87	0.84	0.83	0.82	0.82
6	985.77	984.74	983.75	982.79	981.85	980.95	980.07	979.20	978.35	977.51	0.06	0.08	0.09	0.10	0.12	0.13	0.14	0.17	0.19	0.21	0.21	985.77	984.74	983.75	982.79	981.85	980.95	980.07	979.20	978.35	977.51	1.03	0.99	0.96	0.94	0.90	0.88	0.87	0.85	0.84	0.83
7	995.68	984.65	983.65	982.67	981.72	980.80	979.91	979.02	978.16	977.30	0.09	0.09	0.10	0.12	0.13	0.15	0.16	0.18	0.19	0.21	0.21	995.68	984.65	983.65	982.67	981.72	980.80	979.91	979.02	978.16	977.30	1.03	1.00	0.98	0.95	0.92	0.89	0.86	0.86	0.86	0.85
8	985.59	984.54	983.52	982.54	981.58	980.65	979.73	978.83	977.95	977.07	0.09	0.11	0.13	0.13	0.14	0.15	0.18	0.19	0.21	0.23	0.23	985.59	984.54	983.52	982.54	981.58	980.65	979.73	978.83	977.95	977.07	1.05	1.02	0.98	0.96	0.93	0.92	0.90	0.88	0.88	0.87
9	985.48	984.42	983.40	982.40	981.42	980.47	979.54	978.62	977.73	976.83	0.11	0.12	0.12	0.14	0.16	0.18	0.19	0.21	0.22	0.24	0.24	985.48	984.42	983.40	982.40	981.42	980.47	979.54	978.62	977.73	976.83	1.06	1.02	1.00	0.98	0.95	0.93	0.92	0.89	0.90	0.89
	0.12	0.12	0.14	0.16	0.17	0.18	0.20	0.20	0.23	0.24	0.12	0.12	0.14	0.16	0.17	0.18	0.20	0.20	0.23	0.24	0.24	0.12	0.12	0.14	0.16	0.17	0.18	0.20	0.20	0.23	0.24	0.12	0.12	0.14	0.16	0.17	0.19	0.20	0.23	0.24	



表1(续)

温度/ ℃	酒精体积分数/%																			
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10	985.36 0.13	984.30 0.14	983.26 0.16	982.24 0.16	981.25 0.17	980.29 0.19	979.34 0.20	978.42 0.23	977.50 0.25	976.59 0.27	985.36 0.13	984.30 0.14	983.26 0.16	982.24 0.16	981.25 0.17	980.29 0.19	979.34 0.20	978.42 0.23	977.50 0.25	976.59 0.27
11	985.23 0.14	984.16 0.16	983.10 0.16	982.08 0.18	981.08 0.19	980.10 0.21	979.14 0.22	978.19 0.24	977.25 0.25	976.32 0.27	985.23 0.14	984.16 0.16	983.10 0.16	982.08 0.18	981.08 0.19	980.10 0.21	979.14 0.22	978.19 0.24	977.25 0.25	976.32 0.27
12	985.09 0.16	984.00 0.16	982.94 0.18	981.90 0.19	980.89 0.20	979.89 0.21	978.92 0.23	977.95 0.24	977.00 0.26	976.05 0.28	985.09 0.16	984.00 0.16	982.94 0.18	981.90 0.19	980.89 0.20	979.89 0.21	978.92 0.23	977.95 0.24	977.00 0.26	976.05 0.28
13	984.93 0.16	983.84 0.18	982.76 0.18	981.71 0.20	980.69 0.22	979.68 0.23	978.69 0.24	977.71 0.26	976.74 0.27	975.77 0.28	984.93 0.16	983.84 0.18	982.76 0.18	981.71 0.20	980.69 0.22	979.68 0.23	978.69 0.24	977.71 0.26	976.74 0.27	975.77 0.28
14	994.77 0.18	983.66 0.19	982.58 0.20	981.51 0.21	980.47 0.22	979.45 0.24	978.45 0.25	977.45 0.26	976.47 0.28	975.49 0.30	994.77 0.18	983.66 0.19	982.58 0.20	981.51 0.21	980.47 0.22	979.45 0.24	978.45 0.25	977.45 0.26	976.47 0.28	975.49 0.30
15	994.59 0.19	983.47 0.20	982.38 0.22	981.30 0.22	960.25 0.24	979.21 0.24	978.20 0.27	977.19 0.28	976.19 0.30	975.19 0.31	994.59 0.19	983.47 0.20	982.38 0.22	981.30 0.22	960.25 0.24	979.21 0.24	978.20 0.27	977.19 0.28	976.19 0.30	975.19 0.31
16	984.40 0.20	983.27 0.21	982.16 0.22	981.08 0.23	980.01 0.24	978.97 0.26	977.93 0.27	976.91 0.29	975.89 0.30	974.88 0.32	984.40 0.20	983.27 0.21	982.16 0.22	981.08 0.23	980.01 0.24	978.97 0.26	977.93 0.27	976.91 0.29	975.89 0.30	974.88 0.32
17	984.20 0.22	983.06 0.22	981.94 0.23	980.85 0.25	979.77 0.26	978.71 0.27	977.66 0.28	976.62 0.29	975.59 0.31	974.56 0.32	984.20 0.22	983.06 0.22	981.94 0.23	980.85 0.25	979.77 0.26	978.71 0.27	977.66 0.28	976.62 0.29	975.59 0.31	974.56 0.32
18	983.76 0.22	982.84 0.24	981.71 0.24	980.60 0.25	979.51 0.26	978.44 0.28	977.38 0.29	976.33 0.31	975.28 0.32	974.24 0.34	983.76 0.22	982.84 0.24	981.71 0.24	980.60 0.25	979.51 0.26	978.44 0.28	977.38 0.29	976.33 0.31	975.28 0.32	974.24 0.34
19	983.76 0.24	982.60 0.24	981.47 0.26	980.35 0.27	979.25 0.28	978.16 0.29	977.09 0.30	976.02 0.31	974.96 0.33	973.90 0.34	983.76 0.24	982.60 0.24	981.47 0.26	980.35 0.27	979.25 0.28	978.16 0.29	977.09 0.30	976.02 0.31	974.96 0.33	973.90 0.34



表 1(续)

温度 ℃	酒精体积分数/%										
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
20	983.52	982.36	981.21	980.08	978.97	977.87	976.79	975.71	974.63	973.56	1.08
	0.24	0.26	0.26	0.27	0.28	0.29	0.31	0.33	0.34	0.36	
21	983.28	982.10	980.95	978.81	978.69	977.58	976.48	975.38	974.29	973.20	1.09
	0.26	0.28	0.29	0.30	0.31	0.33	0.33	0.35	0.35	0.36	
22	983.02	981.84	980.67	979.52	978.39	977.27	976.15	975.05	973.94	972.84	1.10
	0.26	0.27	0.28	0.29	0.31	0.32	0.33	0.35	0.35	0.37	
23	982.77	981.57	980.39	979.23	978.08	976.95	975.82	974.70	973.59	972.47	1.12
	0.29	0.29	0.29	0.30	0.31	0.33	0.33	0.35	0.37	0.38	
24	982.48	981.28	980.10	978.93	977.77	976.62	975.49	974.35	973.22	972.09	1.14
	0.28	0.29	0.31	0.32	0.33	0.33	0.35	0.36	0.37	0.39	
25	982.20	980.99	979.79	978.61	977.44	976.29	975.14	973.99	972.85	971.70	1.15
	0.30	0.31	0.31	0.32	0.33	0.35	0.36	0.37	0.39	0.40	
26	981.90	980.68	979.48	978.29	977.11	975.94	974.78	973.62	972.46	971.30	1.16
	0.30	0.31	0.32	0.33	0.34	0.35	0.36	0.38	0.39	0.40	
27	981.60	980.37	979.16	977.96	976.77	975.59	974.42	973.24	972.07	970.90	1.18
	0.32	0.32	0.33	0.34	0.35	0.36	0.38	0.38	0.40	0.41	
28	981.28	980.05	978.83	977.62	976.42	975.23	974.04	972.86	971.67	970.49	1.20
	0.32	0.33	0.34	0.35	0.36	0.37	0.38	0.40	0.40	0.42	
29	980.96	979.72	978.49	977.27	976.06	974.86	973.66	972.46	971.27	970.07	1.21
	0.33	0.34	0.35	0.36	0.37	0.38	0.40	0.41	0.43	0.44	



表1(续)

温度/ °C	酒精体积分数/%									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
30	980.63	979.38	978.14	976.91	975.69	974.48	973.26	972.05	970.84	969.63
	0.34	0.35	0.36	0.37	0.38	0.40	0.40	0.41	0.42	0.44
31	980.29	979.03	977.78	976.54	975.31	974.08	972.86	971.64	970.42	969.19
	0.36	0.36	0.37	0.38	0.39	0.39	0.40	0.42	0.43	0.44
32	979.93	978.67	977.41	976.16	974.92	973.69	972.46	971.22	969.99	968.75
	0.35	0.37	0.37	0.38	0.39	0.40	0.42	0.42	0.44	0.45
33	979.58	978.30	977.04	975.78	974.53	973.29	972.04	970.80	969.55	968.30
	0.37	0.37	0.38	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.46
34	979.21	977.93	976.66	975.39	974.13	972.88	971.62	970.37	969.11	967.84
	0.37	0.38	0.39	0.39	0.40	0.42	0.42	0.44	0.46	0.46
35	978.94	977.55	976.27	975.00	973.73	972.46	971.20	969.93	968.65	967.38
	0.38	0.38	0.39	0.40	0.41	0.42	0.44	0.45	0.45	0.47
36	978.46	977.17	975.88	974.60	973.32	972.04	970.76	969.48	968.20	966.91
	0.39	0.40	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.47	0.48
37	978.07	976.77	975.48	974.19	972.90	971.61	970.32	969.03	967.73	966.43
	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.47	0.49
38	977.68	976.37	975.07	973.77	972.47	971.17	969.87	968.57	967.26	965.94
	0.40	0.41	0.42	0.42	0.43	0.44	0.45	0.47	0.48	0.49
39	977.28	975.96	974.65	973.35	972.04	970.73	969.42	968.10	966.78	965.45
	0.41	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.47	0.48	0.49
40	976.87	975.55	974.23	972.92	971.60	970.28	968.96	967.63	966.30	964.96



表 1(续)

温度 ℃	酒精体积分数/%										
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
0	977.86 0.17	977.16 0.19	976.47 0.22	975.76 0.24	975.05 0.26	974.33 0.29	973.58 0.31	972.81 0.34	972.01 0.36	971.18 0.39	970.31 0.41
1	977.69 0.18	976.97 0.20	976.25 0.23	975.52 0.25	974.79 0.28	974.04 0.30	973.27 0.32	972.47 0.34	971.65 0.37	970.79 0.39	969.90 0.41
2	977.51 0.19	976.77 0.22	976.02 0.23	975.27 0.26	974.51 0.28	973.74 0.31	972.95 0.33	972.13 0.36	971.28 0.38	970.40 0.40	969.49 0.42
3	977.32 0.20	976.55 0.22	975.79 0.25	975.01 0.27	974.23 0.29	973.43 0.31	972.62 0.34	971.77 0.36	970.90 0.38	970.00 0.40	969.07 0.43
4	977.12 0.22	976.33 0.23	975.54 0.26	974.94 0.27	973.94 0.30	973.12 0.33	972.28 0.35	971.41 0.37	970.52 0.39	969.60 0.42	968.64 0.44
5	976.90 0.22	976.10 0.25	975.28 0.26	974.47 0.29	973.64 0.31	972.79 0.33	971.93 0.35	971.04 0.37	970.13 0.40	969.18 0.42	968.20 0.44
6	976.68 0.23	975.85 0.25	975.02 0.28	974.18 0.30	973.33 0.32	972.46 0.34	971.58 0.36	970.67 0.36	969.73 0.40	968.76 0.42	967.76 0.44
7	976.45 0.25	975.60 0.27	974.74 0.28	973.88 0.31	973.01 0.33	972.12 0.35	971.22 0.37	970.20 0.40	969.33 0.42	968.34 0.43	967.32 0.46
8	976.20 0.26	975.33 0.28	974.46 0.30	973.57 0.31	972.68 0.34	971.77 0.35	970.85 0.38	969.89 0.39	968.91 0.41	967.91 0.44	966.86 0.46
9	975.99 0.26	975.10 0.28	974.16 0.30	973.26 0.33	972.34 0.34	971.42 0.37	970.47 0.39	969.50 0.41	968.50 0.43	967.47 0.45	966.40 0.46



表1(续)

温度/ °C	酒精体积分数/%																
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31						
10	0.91	974.77	0.91	972.93	0.93	971.05	0.97	970.08	0.99	969.09	1.02	968.07	1.05	967.02	1.08	965.94	1.12
	0.29	0.30	0.33	0.34	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.47	0.46	0.45	0.48	0.48
11	0.92	974.47	0.94	972.59	0.95	970.67	0.99	969.68	1.01	968.67	1.04	967.63	1.07	966.56	1.09	965.47	1.13
	0.28	0.31	0.32	0.34	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44	0.45	0.48	0.49	0.47	0.46	0.45	0.48	0.48
12	0.95	974.16	0.95	972.25	0.97	970.29	1.01	969.28	1.03	968.25	1.06	967.19	1.08	966.11	1.12	964.99	1.15
	0.30	0.31	0.33	0.35	0.37	0.39	0.41	0.43	0.45	0.47	0.49	0.47	0.46	0.45	0.48	0.48	0.49
13	0.96	973.85	0.97	971.90	0.99	969.90	1.03	968.87	1.05	967.82	1.08	966.74	1.10	965.64	1.14	964.50	1.17
	0.30	0.32	0.34	0.36	0.38	0.40	0.41	0.43	0.45	0.47	0.49	0.47	0.46	0.45	0.48	0.48	0.49
14	0.98	973.53	0.99	971.54	1.01	969.50	1.04	968.46	1.07	967.39	1.10	966.29	1.12	965.17	1.16	964.01	1.19
	0.32	0.34	0.35	0.37	0.39	0.40	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.47	0.46	0.45	0.48	0.48	0.49
15	1.00	973.19	1.00	971.17	1.03	969.10	1.06	968.04	1.09	966.95	1.12	965.83	1.14	964.69	1.17	963.52	1.21
	0.32	0.34	0.36	0.37	0.39	0.41	0.43	0.45	0.46	0.48	0.51	0.46	0.45	0.48	0.48	0.51	0.51
16	1.02	972.85	1.02	970.80	1.05	968.69	1.08	967.61	1.11	966.50	1.13	965.37	1.16	964.21	1.20	963.01	1.22
	0.33	0.35	0.37	0.39	0.40	0.42	0.44	0.45	0.48	0.49	0.50	0.48	0.47	0.50	0.50	0.50	0.50
17	1.04	972.50	1.04	970.41	1.06	968.27	1.10	967.17	1.12	966.05	1.16	964.89	1.18	963.71	1.20	962.51	1.24
	0.35	0.36	0.37	0.39	0.41	0.43	0.45	0.47	0.48	0.49	0.52	0.48	0.47	0.49	0.49	0.52	0.52
18	1.05	972.14	1.05	970.02	1.08	967.84	1.12	966.72	1.14	965.58	1.17	964.41	1.19	963.22	1.23	961.99	1.25
	0.35	0.36	0.39	0.40	0.42	0.43	0.45	0.47	0.48	0.49	0.52	0.48	0.47	0.50	0.50	0.52	0.52
19	1.06	971.78	1.08	969.62	1.10	967.41	1.14	966.27	1.16	965.11	1.18	963.93	1.21	962.72	1.25	961.47	1.27
	0.36	0.38	0.39	0.41	0.42	0.45	0.46	0.48	0.49	0.47	0.51	0.49	0.48	0.51	0.51	0.52	0.52



表 1(续)

温度 ℃	酒精体积分数/%											
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
20	972.48	971.40	970.31	969.21	968.10	966.96	965.81	964.64	963.44	962.21	960.95	1.29
	0.37	0.38	0.40	0.42	0.44	0.45	0.46	0.49	0.50	0.52	0.53	
21	972.11	971.02	969.91	968.79	967.66	966.51	965.35	964.15	962.94	961.69	960.42	1.31
	0.37	0.40	0.41	0.42	0.44	0.45	0.48	0.49	0.51	0.52	0.54	
22	971.74	970.62	969.50	968.37	967.22	966.06	964.87	963.66	962.43	961.17	959.88	1.32
	0.39	0.40	0.42	0.43	0.45	0.47	0.48	0.49	0.51	0.53	0.55	
23	971.35	970.22	969.08	967.94	966.77	965.59	964.39	963.17	961.92	960.64	959.33	1.33
	0.40	0.41	0.42	0.44	0.45	0.47	0.49	0.51	0.52	0.54	0.55	
24	970.95	969.81	968.66	967.50	966.32	965.12	963.90	962.66	961.40	960.10	958.78	1.35
	0.40	0.42	0.43	0.45	0.47	0.48	0.49	0.51	0.53	0.54	0.55	
25	970.55	969.39	968.23	967.05	965.85	964.64	963.41	962.15	960.87	959.56	958.23	1.37
	0.41	0.42	0.44	0.46	0.47	0.49	0.50	0.51	0.53	0.54	0.57	
26	970.14	968.97	967.79	966.59	965.38	964.15	962.91	961.64	960.34	959.02	957.66	1.38
	0.42	0.43	0.45	0.46	0.48	0.49	0.51	0.53	0.54	0.56	0.56	
27	969.72	968.54	967.34	966.13	964.90	963.66	962.40	961.11	959.80	958.46	957.10	1.40
	0.43	0.45	0.46	0.47	0.48	0.50	0.52	0.54	0.56	0.57	0.59	
28	969.29	968.09	966.88	965.66	964.42	963.16	961.88	960.57	959.24	957.89	956.51	1.41
	0.43	0.45	0.47	0.49	0.50	0.52	0.53	0.53	0.55	0.56	0.58	
29	968.86	967.64	966.41	965.17	963.92	962.64	961.35	960.04	958.69	957.33	955.93	1.42
	0.45	0.46	0.47	0.49	0.50	0.51	0.53	0.55	0.55	0.58	0.58	



表1(续)

温度/ ℃	酒精体积分数/%											
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
30	968.41	967.18	965.94	964.68	963.42	962.13	960.82	959.49	958.14	956.75	955.35	953.96
	0.45	0.46	0.48	0.49	0.51	0.52	0.53	0.55	0.57	0.58	0.60	0.60
31	967.96	966.72	965.46	964.19	962.91	961.61	960.29	958.94	957.57	956.17	954.75	953.34
	0.46	0.47	0.48	0.50	0.51	0.53	0.54	0.55	0.57	0.58	0.59	0.59
32	967.50	966.25	964.98	963.69	962.40	961.08	959.75	958.39	957.00	955.59	954.16	952.72
	0.46	0.48	0.49	0.50	0.52	0.53	0.55	0.57	0.57	0.59	0.61	0.61
33	967.04	965.77	964.49	963.19	961.88	960.55	959.20	957.82	956.43	955.00	953.55	952.11
	0.47	0.49	0.50	0.51	0.53	0.54	0.56	0.56	0.59	0.59	0.60	0.60
34	966.57	965.28	963.99	962.68	961.35	960.01	958.64	957.26	955.84	954.41	952.95	951.49
	0.48	0.49	0.51	0.52	0.53	0.55	0.56	0.58	0.58	0.60	0.62	0.62
35	966.09	964.79	963.48	962.16	960.82	959.46	958.08	956.68	955.26	953.81	952.33	950.85
	0.48	0.50	0.51	0.53	0.54	0.55	0.57	0.58	0.60	0.61	0.62	0.62
36	965.61	964.29	962.97	961.63	960.28	958.91	957.51	956.10	954.66	953.20	951.71	950.21
	0.49	0.50	0.52	0.53	0.55	0.56	0.57	0.59	0.60	0.61	0.62	0.62
37	965.12	963.79	962.45	961.10	959.73	958.35	956.94	955.51	954.06	952.59	951.09	949.58
	0.50	0.51	0.52	0.54	0.55	0.57	0.58	0.59	0.60	0.62	0.63	0.63
38	964.62	963.28	961.93	960.56	959.18	957.78	956.36	954.92	953.46	951.97	950.44	948.88
	0.50	0.52	0.53	0.54	0.56	0.57	0.58	0.60	0.61	0.62	0.64	0.64
39	964.12	962.76	961.40	960.02	958.62	957.21	955.78	954.32	952.85	951.35	949.82	948.25
	0.51	0.52	0.54	0.55	0.56	0.58	0.59	0.60	0.62	0.63	0.64	0.64
40	963.61	962.24	960.86	959.47	958.06	956.63	955.19	953.72	952.23	950.72	949.18	947.61
	0.51	0.52	0.54	0.55	0.56	0.58	0.59	0.60	0.62	0.63	0.64	0.64

表2 20℃国际酒精度表

表观酒精度(普通玻璃酒精计)温度影响校正表,根据下表校正 $t^{\circ}\text{C}$ 时表观酒精度的增加或减少。

温度/ $^{\circ}\text{C}$		$t^{\circ}\text{C}$ 时表观酒精度															
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0	应加数	0.76	0.77	0.82	0.87	0.95	1.04	1.16	1.31	1.49	1.70	1.95	2.26	2.62	3.03	3.49	4.02
1		0.81	0.83	0.87	0.92	1.00	1.09	1.20	1.35	1.52	1.73	1.97	2.26	2.59	2.97	3.40	3.87
2		0.85	0.87	0.92	0.97	1.04	1.13	1.24	1.38	1.54	1.74	1.97	2.24	2.54	2.89	3.29	3.72
3		0.88	0.91	0.95	1.00	1.07	1.15	1.26	1.39	1.55	1.73	1.95	2.20	2.48	2.80	3.16	3.55
4		0.90	0.92	0.97	1.02	1.09	1.17	1.27	1.40	1.55	1.72	1.92	2.15	2.41	2.71	3.03	3.38
5		0.91	0.93	0.98	1.03	1.10	1.17	1.27	1.39	1.53	1.69	1.87	2.08	2.33	2.60	2.89	3.21
6		0.92	0.94	0.98	1.02	1.09	1.16	1.25	1.37	1.50	1.65	1.82	2.01	2.23	2.47	2.74	3.02
7		0.91	0.93	0.97	1.01	1.07	1.14	1.23	1.33	1.45	1.59	1.75	1.92	2.12	2.34	2.58	2.83
8		0.89	0.91	0.94	0.98	1.04	1.11	1.19	1.28	1.39	1.52	1.66	1.82	2.00	2.20	2.42	2.65
9		0.86	0.88	0.91	0.95	1.01	1.07	1.14	1.23	1.33	1.44	1.57	1.71	1.97	2.05	2.24	2.44
10		0.82	0.84	0.87	0.91	0.96	1.01	1.08	1.16	1.25	1.35	1.47	1.60	1.74	1.89	2.06	2.24
11		0.78	0.79	0.82	0.86	0.90	0.95	1.01	1.08	1.16	1.25	1.36	1.47	1.60	1.73	1.88	2.03
12		0.72	0.74	0.76	0.79	0.83	0.88	0.93	0.99	1.07	1.15	1.24	1.34	1.44	1.56	1.69	1.82
13		0.66	0.67	0.69	0.72	0.76	0.80	0.84	0.90	0.96	1.03	1.11	1.19	1.28	1.38	1.49	1.61
14		0.59	0.60	0.62	0.64	0.67	0.71	0.74	0.79	0.85	0.91	0.97	1.04	1.12	1.20	1.29	1.39
15		0.51	0.52	0.53	0.55	0.58	0.61	0.64	0.68	0.73	0.77	0.83	0.89	0.95	1.02	1.09	1.16
16		0.42	0.43	0.44	0.46	0.48	0.50	0.53	0.56	0.60	0.63	0.67	0.72	0.77	0.82	0.88	0.94
17		0.33	0.33	0.34	0.35	0.37	0.39	0.41	0.43	0.46	0.48	0.51	0.55	0.59	0.62	0.67	0.71
18		0.23	0.23	0.23	0.24	0.25	0.26	0.27	0.29	0.31	0.33	0.35	0.37	0.40	0.42	0.45	0.48
19		0.12	0.12	0.12	0.12	0.13	0.13	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	0.23	0.24
21	应减数		0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.15	0.16	0.17	0.18	0.19	0.19	0.20	0.22	0.23	0.25
22			0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.31	0.32	0.34	0.36	0.37	0.39	0.41	0.44	0.47	0.49
23			0.40	0.41	0.42	0.44	0.45	0.47	0.49	0.51	0.54	0.57	0.60	0.63	0.66	0.70	0.74
24			0.55	0.56	0.58	0.60	0.62	0.64	0.67	0.70	0.73	0.77	0.81	0.85	0.89	0.94	0.99
25			0.69	0.71	0.73	0.76	0.79	0.82	0.85	0.89	0.93	0.97	1.02	1.07	1.13	1.19	1.25
26			0.85	0.87	0.90	0.93	0.96	1.00	1.04	1.08	1.13	1.18	1.24	1.30	1.36	1.43	1.50
27				1.03	1.07	1.11	1.15	1.19	1.23	1.28	1.34	1.40	1.46	1.53	1.60	1.68	1.76
28				1.21	1.25	1.29	1.33	1.38	1.43	1.49	1.55	1.62	1.69	1.77	1.85	1.93	2.02
29				1.39	1.43	1.47	1.52	1.58	1.63	1.70	1.76	1.84	1.92	2.01	2.10	2.19	2.29
30				1.57	1.61	1.66	1.72	1.78	1.84	1.91	1.98	2.07	2.15	2.25	2.35	2.45	2.56
31				1.75	1.80	1.86	1.92	1.98	2.05	2.13	2.21	2.30	2.39	2.49	2.60	2.71	2.83
32				1.94	2.00	2.06	2.13	2.20	2.27	2.35	2.44	2.53	2.63	2.74	2.86	2.97	3.09
33					2.20	2.27	2.34	2.42	2.50	2.58	2.67	2.77	2.88	2.99	3.12	3.24	3.37
34					2.41	2.48	2.56	2.64	2.72	2.81	2.91	3.02	3.13	3.25	3.38	3.51	3.65
35					2.62	2.70	2.78	2.86	2.95	3.05	3.16	3.27	3.39	3.51	3.64	3.78	3.93
36					2.83	2.91	3.00	3.09	3.19	3.29	3.41	3.53	3.65	3.78	3.91	4.05	4.21
37						3.13	3.23	3.33	3.43	3.54	3.65	3.78	3.91	4.04	4.18	4.33	4.49
38						3.36	3.47	3.57	3.68	3.79	3.91	4.03	4.17	4.31	4.46	4.61	4.77
39						3.59	3.70	3.81	3.93	4.05	4.17	4.44	4.58	4.74	4.90	5.06	5.06
40						3.82	3.94	4.06	4.18	4.31	4.44	4.57	4.71	4.86	5.02	5.19	5.36

表 2(续)

温度/°C		t°C时表观酒精度														
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
0	应加数	4.56	5.11	5.65	6.16	6.63	7.05	7.39	7.67	7.91	8.07	8.20	8.30	8.36	8.39	8.40
1		4.36	4.86	5.35	5.82	6.26	6.64	6.96	7.23	7.45	7.62	7.75	7.85	7.91	7.95	7.96
2		4.17	4.61	5.05	5.49	5.89	6.25	6.55	6.81	7.02	7.18	7.31	7.40	7.47	7.51	7.53
3		3.95	4.36	4.77	5.17	5.53	5.85	6.14	6.39	6.59	6.74	6.86	6.97	7.03	7.07	7.09
4		3.75	4.11	4.48	4.84	5.17	5.48	5.74	5.97	6.16	6.31	6.43	6.53	6.59	6.63	6.66
5		3.54	3.86	4.20	4.52	4.83	5.11	5.35	5.56	5.74	5.89	6.00	6.10	6.16	6.20	6.23
6		3.32	3.61	3.91	4.21	4.49	4.74	4.96	5.16	5.33	5.47	5.58	5.67	5.73	5.77	5.80
7		3.10	3.36	3.63	3.90	4.15	4.38	4.58	4.77	4.92	5.05	5.15	5.24	5.30	5.34	5.37
8		2.88	3.11	3.35	3.59	3.81	4.02	4.21	4.38	4.52	4.64	4.74	4.81	4.87	4.92	4.95
9		2.65	2.86	3.07	3.28	3.48	3.67	3.84	3.99	4.12	4.23	4.32	4.39	4.45	4.50	4.53
10		2.43	2.61	2.80	2.98	3.16	3.33	3.48	3.61	3.73	3.83	3.91	3.98	4.03	4.08	4.11
11		2.20	2.36	2.52	2.68	2.83	2.98	3.12	3.24	3.34	3.43	3.50	3.57	3.62	3.66	3.69
12		1.96	2.10	2.24	2.38	2.51	2.64	2.76	2.87	2.96	3.04	3.10	3.16	3.21	3.25	3.27
13		1.73	1.84	1.96	2.08	2.20	2.31	2.41	2.50	2.58	2.65	2.71	2.76	2.80	2.83	2.85
14		1.49	1.58	1.68	1.78	1.88	1.97	2.06	2.13	2.20	2.26	2.31	2.36	2.39	2.42	2.44
15		1.24	1.32	1.40	1.48	1.56	1.64	1.71	1.77	1.83	1.88	1.92	1.96	1.98	2.01	2.03
16		1.00	1.06	1.12	1.19	1.25	1.31	1.36	1.41	1.46	1.50	1.53	1.56	1.58	1.60	1.62
17		0.75	0.80	0.84	0.89	0.94	0.98	1.02	1.05	1.09	1.12	1.14	1.17	1.18	1.20	1.21
18		0.51	0.53	0.56	0.59	0.62	0.65	0.68	0.70	0.72	0.74	0.76	0.78	0.79	0.80	0.81
19	0.25	0.27	0.28	0.30	0.31	0.33	0.34	0.35	0.36	0.37	0.38	0.39	0.40	0.41	0.41	
21	应减数	0.26	0.28	0.29	0.30	0.31	0.33	0.34	0.35	0.35	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40
22		0.52	0.55	0.57	0.60	0.62	0.65	0.67	0.70	0.72	0.74	0.75	0.76	0.78	0.79	0.80
23		0.78	0.82	0.86	0.90	0.93	0.97	1.01	1.04	1.07	1.10	1.12	1.15	1.17	1.18	1.19
24		1.04	1.10	1.15	1.20	1.25	1.29	1.34	1.39	1.43	1.46	1.50	1.53	1.55	1.57	1.59
25		1.31	1.37	1.43	1.49	1.56	1.62	1.68	1.73	1.78	1.83	1.87	1.90	1.94	1.97	1.99
26		1.57	1.65	1.73	1.80	1.87	1.94	2.01	2.07	2.13	2.19	2.24	2.28	2.32	2.35	2.38
27		1.84	1.93	2.01	2.10	2.18	2.26	2.34	2.41	2.48	2.55	2.61	2.66	2.70	2.74	2.77
28		2.11	2.21	2.31	2.40	2.49	2.58	2.67	2.76	2.83	2.90	2.98	3.03	3.08	3.13	3.17
29		2.39	2.50	2.60	2.70	2.81	2.91	3.00	3.09	3.18	3.26	3.34	3.40	3.46	3.51	3.55
30		2.67	2.78	2.90	3.01	3.12	3.23	3.34	3.44	3.53	3.62	3.70	3.77	3.84	3.90	3.95
31		2.94	3.07	3.19	3.31	3.43	3.55	3.67	3.78	3.88	3.98	4.07	4.15	4.22	4.28	4.33
32		3.22	3.36	3.49	3.62	3.74	3.87	4.00	4.11	4.22	4.33	4.43	4.51	4.59	4.66	4.72
33		3.51	3.65	3.79	3.92	4.06	4.20	4.33	4.45	4.57	4.68	4.79	4.88	4.97	5.04	5.10
34		3.79	3.94	4.09	4.23	4.37	4.52	4.66	4.79	4.91	5.03	5.15	5.25	5.34	5.42	5.49
35		4.08	4.23	4.38	4.53	4.69	4.84	4.98	5.12	5.26	5.38	5.50	5.61	5.71	5.80	5.87
36		4.37	4.52	4.68	4.84	5.00	5.16	5.31	5.46	5.60	5.73	5.86	5.97	6.08	6.17	6.25
37		4.65	4.82	4.98	5.15	5.31	5.48	5.64	5.80	5.95	6.09	6.22	6.33	6.44	6.54	6.63
38		4.94	5.12	5.29	5.46	5.63	5.80	5.97	6.13	6.29	6.43	6.57	6.69	6.81	6.92	7.01
39		5.23	5.41	5.59	5.77	5.94	6.12	6.30	6.47	6.63	6.78	6.93	7.06	7.18	7.29	7.39
40	5.53	5.71	5.90	6.08	6.26	6.44	6.62	6.80	6.97	7.13	7.28	7.41	7.54	7.66	7.76	

表 3 20℃ 国际酒精度
 $t^{\circ}\text{C}$ 时普通玻璃装置法测定酒精-水混合物的表观密度表(密度已经空气浮力校正)。

温度/ $^{\circ}\text{C}$	酒精体积分数/%																			
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									
0	999.34	1.52997.82	1.45996.37	1.39	994.98	1.35	993.63	1.29	992.34	1.24	991.10	1.18	989.92	1.15	988.77	1.09	987.68	1.05	986.63	1.00
	-0.09	-0.09	-0.09	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.07	-0.07	-0.05	-0.05	-0.05	-0.05	-0.04	-0.04	-0.04	-0.03
1	999.43	1.52997.91	1.45996.46	1.40	995.06	1.35	993.71	1.29	992.42	1.25	991.17	1.20	989.97	1.15	988.82	1.10	987.72	1.06	986.66	1.01
	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.06	-0.05	-0.05	-0.05	-0.05	-0.04	-0.04	-0.03	-0.03	-0.02	-0.02	0.02	0.02
2	999.49	1.52997.97	1.40996.52	1.40	995.12	1.35	993.77	1.30	992.47	1.25	991.22	1.21	990.01	1.16	988.85	1.11	987.74	1.06	986.68	1.02
	-0.05	-0.05	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.04	-0.03	-0.03	-0.03	-0.03	-0.03	-0.02	-0.02	-0.02	0.00	0.00
3	999.54	1.52998.02	1.46996.56	1.40	995.16	1.35	993.81	1.30	992.51	1.26	991.25	1.21	990.04	1.16	988.88	1.12	987.76	1.08	986.68	1.03
	-0.03	-0.03	-0.03	-0.03	-0.03	-0.03	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.01	-0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
4	999.57	1.52998.05	1.46996.59	1.40	995.19	1.36	993.83	1.30	992.53	1.26	991.27	1.22	990.05	1.17	988.88	1.13	987.75	1.08	986.67	1.04
	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.02	-0.01	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
5	999.59	1.52998.07	1.46996.61	1.40	995.21	1.36	993.85	1.31	992.54	1.27	991.27	1.22	990.05	1.17	988.88	1.14	987.74	1.09	986.65	1.05
	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04
6	999.59	1.52998.07	1.46996.61	1.41	995.20	1.36	993.84	1.31	992.53	1.27	991.26	1.23	990.03	1.18	988.85	1.14	987.71	1.10	986.61	1.07
	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05
7	999.58	1.52998.06	1.46996.60	1.41	995.19	1.36	993.83	1.32	992.51	1.27	991.24	1.23	990.01	1.19	988.82	1.15	987.67	1.11	986.56	1.08
	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07
8	999.55	1.52998.03	1.46996.57	1.41	995.16	1.37	993.79	1.32	992.47	1.28	991.19	1.23	989.96	1.20	988.76	1.16	987.60	1.11	986.49	1.09
	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.08	0.08
9	999.51	1.52997.99	1.46996.53	1.41	995.12	1.37	993.75	1.32	992.43	1.29	991.14	1.24	989.90	1.20	988.70	1.16	987.54	1.13	986.41	1.09
	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.09	0.09	0.10	0.10



表3(续)

温度/ °C	酒精体积分数/%																			
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									
10	999.45	1.52997.93	1.46996.47	1.41	995.06	1.37	993.69	1.33	992.36	1.29	991.07	1.24	989.83	1.21	988.62	1.17	987.45	1.14	986.31	1.10
	0.07	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10
11	999.38	1.51997.87	1.46996.41	1.42	994.99	1.37	993.62	1.33	992.29	1.29	991.00	1.25	989.75	1.22	988.53	1.18	987.35	1.14	986.21	1.11
	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.10	0.10	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12	0.12
12	999.29	1.51997.78	1.46996.32	1.42	994.90	1.37	993.53	1.33	992.20	1.30	990.90	1.26	989.64	1.22	988.42	1.18	987.24	1.15	986.109	1.12
	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.11	0.11	0.12	0.12	0.13	0.13
13	999.20	1.51997.69	1.46996.23	1.42	994.81	1.38	993.43	1.33	992.10	1.30	990.80	1.26	989.54	1.23	988.31	1.19	987.12	1.16	985.96	1.13
	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.12	0.12	0.12	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15
14	999.09	1.51997.58	1.46996.12	1.42	994.70	1.38	993.32	1.34	991.98	1.30	990.68	1.27	989.41	1.23	988.18	1.20	986.98	1.17	985.81	1.14
	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15
15	998.97	1.51997.46	1.46996.00	1.42	994.58	1.38	993.20	1.34	991.86	1.31	990.55	1.27	989.28	1.24	988.04	1.20	986.94	1.18	985.66	1.15
	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.17	0.17	0.17	0.17
16	998.84	1.51997.33	1.46995.87	1.42	994.45	1.39	993.06	1.34	991.72	1.31	990.41	1.28	989.13	1.24	987.89	1.22	986.67	1.18	985.49	1.16
	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17
17	998.70	1.51997.19	1.46995.73	1.42	994.31	1.39	992.92	1.35	991.57	1.31	990.26	1.28	988.98	1.25	987.73	1.22	986.50	1.18	985.32	1.17
	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19
18	998.55	1.51997.04	1.47995.57	1.42	994.15	1.39	992.76	1.35	991.41	1.32	990.09	1.28	988.81	1.26	987.55	1.23	986.32	1.19	985.13	1.17
	0.17	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.20	0.20
19	998.38	1.50996.88	1.47995.41	1.42	993.99	1.39	992.60	1.35	991.25	1.33	989.92	1.29	988.63	1.26	987.37	1.24	986.13	1.20	98493	1.18
	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.20	0.20	0.21	0.21	0.22	0.22	0.22	0.22



表3(续)

温度/ °C	酒精体积分数/%																			
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10									
30	995.90	1.51994,39	1.48992,91	1.45	991.46	1.41	990.05	1.39	988.66	1.37	987.29	1.34	985.95	1.32	984.63	1.30	983.33	1.29	982.04	1.27
	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32
31	995.61	1.51994,10	1.48992,62	1.45	991.17	1.42	989.75	1.39	988.36	1.37	986.99	1.35	985.64	1.33	984.31	1.30	983.01	1.29	981.72	1.27
	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33
32	995.32	1.51993,81	1.48992,33	1.45	990.88	1.42	989.45	1.40	988.05	1.37	986.68	1.35	985.33	1.33	984.00	1.31	982.69	1.30	981.39	1.28
	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34
33	995.02	1.52993,50	1.48992,02	1.45	990.57	1.43	989.14	1.40	987.74	1.37	986.37	1.36	985.01	1.34	983.67	1.31	982.36	1.31	981.05	1.28
	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
34	994.72	1.53993,19	1.48991,71	1.45	990.26	1.43	988.83	1.41	987.42	1.38	986.04	1.36	984.68	1.34	983.34	1.32	982.02	1.31	980.71	1.29
	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
35	994.40	1.53992,87	1.48991,39	1.46	989.93	1.43	988.50	1.41	987.09	1.38	985.71	1.36	984.35	1.34	983.01	1.33	981.68	1.31	980.37	1.30
	0.32	0.32	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36
36	994.08	1.53992,55	1.49991,06	1.46	989.60	1.43	988.17	1.41	986.76	1.39	985.37	1.36	984.01	1.35	982.66	1.33	981.33	1.32	980.01	1.31
	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
37	993.75	1.54992,21	1.49990,72	1.46	989.26	1.44	987.82	1.41	986.41	1.39	985.02	1.37	983.65	1.35	982.30	1.33	980.97	1.32	979.65	1.32
	0.34	0.34	0.35	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.38
38	993.41	1.54991,87	1.50990,37	1.47	988.90	1.44	87.46	1.41	986.05	1.39	984.66	1.37	983.29	1.36	981.93	1.34	980.59	1.32	979.27	1.32
	0.35	0.35	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
39	993.06	1.54991,52	1.51990,01	1.47	988.54	1.44	987.10	1.41	985.68	1.39	984.29	1.37	982.92	1.36	981.56	1.34	980.22	1.33	978.89	1.33
	0.35	0.36	0.36	0.37	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
40	992.71	1.55991,16	1.51989,65	1.48	988.17	1.45	986.72	1.42	985.30	1.39	983.91	1.37	982.54	1.36	981.18	1.35	979.83	1.33	978.50	1.33



表 3(续)

温度 ℃	酒精体积分数/%									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	0.96 0.95.63	0.92 0.92	0.87 0.83.75	0.84 0.82.88	0.81 0.82.04	0.77 0.81.23	0.75 0.80.46	0.73 0.79.71	0.72 0.78.98	0.70 0.78.26
1	0.97 0.95.65	0.93 0.93	0.89 0.83.75	0.86 0.82.86	0.82 0.82.00	0.79 0.81.18	0.77 0.80.39	0.75 0.79.62	0.74 0.78.87	0.72 0.78.13
2	0.98 0.95.66	0.94 0.94	0.91 0.83.74	0.87 0.82.83	0.84 0.81.96	0.81 0.81.12	0.79 0.80.31	0.77 0.79.52	0.76 0.78.75	0.75 0.77.99
3	0.99 0.95.65	0.96 0.96	0.92 0.83.70	0.88 0.82.78	0.86 0.81.90	0.83 0.81.04	0.81 0.80.21	0.79 0.79.40	0.78 0.78.61	0.77 0.77.83
4	1.00 0.95.63	0.97 0.97	0.93 0.83.66	0.90 0.82.73	0.87 0.81.83	0.85 0.80.96	0.83 0.80.11	0.81 0.79.28	0.80 0.78.47	0.79 0.77.67
5	0.03 0.95.60	0.05 0.98	0.06 0.83.60	0.08 0.82.65	0.09 0.81.74	0.11 0.80.85	0.13 0.79.98	0.14 0.84	0.16 0.78.31	0.18 0.77.49
6	0.06 0.95.54	0.06 0.99	0.07 0.83.53	0.08 0.82.57	0.10 0.81.64	0.11 0.80.74	0.13 0.79.85	0.15 0.86	0.17 0.84	0.19 0.77.30
7	0.08 0.95.48	0.08 1.00	0.09 0.83.44	0.10 0.82.47	0.12 0.81.52	0.14 0.80.60	0.15 0.79.70	0.17 0.88	0.19 0.85	0.20 0.77.10
8	0.08 0.95.40	0.09 1.01	0.10 0.83.34	0.11 0.82.36	0.12 0.81.40	0.14 0.80.46	0.16 0.79.54	0.18 0.90	0.19 0.87	0.21 0.76.89
9	0.08 0.95.32	0.09 1.03	0.11 0.83.23	0.13 0.82.23	0.14 0.81.26	0.15 0.80.31	0.16 0.79.38	0.18 0.92	0.20 0.89	0.22 0.76.67
	0.11	0.12	0.13	0.14	0.16	0.17	0.18	0.19	0.21	0.23



表3(续)

温度/ ℃	酒精积分数/%									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
10	985.21 0.11	984.14 1.04 0.12	983.10 1.01 0.13	982.09 0.99 0.15	981.10 0.96 0.16	980.14 0.94 0.17	979.20 0.93 0.19	918.27 0.92 0.21	977.35 0.91 0.23	976.44 0.91 0.25
11	985.10 0.13	984.02 1.05 0.14	982.97 1.03 0.15	981.94 1.00 0.16	980.94 0.97 0.17	979.97 0.96 0.19	979.01 0.95 0.21	978.06 0.94 0.22	977.12 0.93 0.24	976.19 0.93 0.26
12	984.97 0.14	983.88 1.06 0.15	982.82 1.04 0.16	981.78 1.01 0.17	980.77 0.99 0.19	979.78 0.98 0.20	978.80 0.96 0.21	977.84 0.96 0.23	976.88 0.95 0.24	975.93 0.94 0.26
13	984.83 0.16	983.73 1.07 0.17	982.66 1.05 0.18	981.61 1.03 0.19	980.58 1.00 0.20	979.58 0.99 0.22	978.59 0.98 0.23	977.61 0.97 0.24	976.64 0.97 0.26	975.67 0.96 0.27
14	984.67 0.16	983.56 1.08 0.17	982.48 1.06 0.18	981.42 1.04 0.19	980.38 1.02 0.20	979.36 1.00 0.22	978.36 0.99 0.24	977.37 0.99 0.26	976.38 0.98 0.27	975.40 0.98 0.28
15	984.51 0.18	983.39 1.09 0.19	982.30 1.07 0.20	981.23 1.05 0.21	980.18 1.04 0.22	979.14 1.02 0.23	978.12 1.01 0.25	977.11 1.00 0.26	976.11 0.99 0.28	975.12 1.00 0.30
16	984.33 0.18	983.20 1.10 0.19	982.10 1.08 0.20	981.02 1.06 0.21	979.96 1.05 0.23	978.91 1.04 0.24	977.87 1.02 0.25	976.85 1.02 0.27	975.83 1.01 0.29	974.82 1.01 0.30
17	984.15 0.19	98.301 1.11 0.20	981.90 1.09 0.22	980.81 1.08 0.24	979.73 1.06 0.25	978.67 1.05 0.26	977.62 1.04 0.27	976.58 1.04 0.28	975.54 1.02 0.29	974.52 1.02 0.31
18	983.96 0.21	982.81 1.13 0.22	981.68 1.11 0.23	980.57 1.09 0.24	979.48 1.07 0.25	978.41 1.06 0.26	977.35 1.05 0.27	976.30 1.05 0.29	975.25 1.04 0.30	974.21 1.04 0.32
19	983.75 0.23	982.59 1.14 0.24	981.45 1.12 0.24	980.33 1.10 0.25	979.23 1.08 0.26	978.15 1.07 0.28	977.08 1.07 0.29	976.01 1.06 0.30	974.94 1.05 0.31	973.89 1.06 0.33



表 3(续)

温度 ℃	酒精体积分数/%									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
20	983.52 0.23	982.35 0.23	981.21 0.25	980.08 0.26	978.97 0.28	977.87 0.29	976.79 0.31	975.71 0.32	974.63 0.33	973.56 0.35
21	983.29 0.24	982.12 0.25	980.96 0.26	979.82 0.27	978.69 0.28	977.58 0.29	976.48 0.31	975.39 0.32	974.30 0.33	973.21 0.35
22	983.05 0.25	981.97 0.26	980.70 0.27	979.55 0.28	978.41 0.29	977.29 0.30	976.17 0.31	975.07 0.33	973.97 0.34	972.86 0.35
23	982.80 0.26	981.61 0.27	980.43 0.28	979.27 0.29	978.12 0.30	976.99 0.31	975.86 0.32	974.74 0.33	973.63 0.35	972.51 0.36
24	982.54 0.27	981.34 0.28	980.15 0.29	978.98 0.30	977.82 0.31	976.68 0.32	975.54 0.33	974.41 0.35	973.28 0.36	972.15 0.38
25	982.27 0.28	981.06 0.29	979.86 0.29	978.68 0.30	977.51 0.31	976.36 0.33	975.21 0.34	974.06 0.35	972.92 0.37	971.77 0.38
26	981.99 0.29	980.77 0.30	979.57 0.31	978.38 0.32	977.20 0.33	976.03 0.34	974.87 0.36	973.71 0.37	972.55 0.38	971.39 0.39
27	981.70 0.30	980.47 0.30	979.26 0.31	978.06 0.32	976.87 0.33	975.69 0.35	974.51 0.36	973.34 0.38	972.17 0.39	971.00 0.40
28	981.40 0.31	980.17 0.32	978.95 0.33	977.74 0.34	976.54 0.35	975.34 0.36	974.15 0.37	972.96 0.38	971.78 0.39	970.60 0.40
29	981.09 0.32	979.85 0.33	978.62 0.34	977.40 0.35	976.19 0.36	974.98 0.37	973.78 0.38	972.58 0.38	971.39 0.40	970.20 0.42



表3(续)

温度/ ℃	酒精体积分数/%										
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
30	980.77	979.52	978.28	977.05	975.83	974.62	973.41	972.20	970.99	969.78	1.22
	0.32	0.33	0.34	0.35	0.36	0.37	0.38	0.39	0.40	0.42	0.42
31	980.45	979.19	977.94	976.70	975.47	974.25	973.03	971.81	970.59	969.36	1.23
	0.34	0.34	0.35	0.36	0.37	0.38	0.39	0.40	0.42	0.43	0.43
32	980.11	978.95	977.59	976.34	975.10	973.87	972.64	971.41	970.17	968.93	1.25
	0.34	0.35	0.35	0.36	0.37	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.43
33	979.77	978.50	977.24	975.78	974.73	973.48	972.24	971.00	969.75	968.50	1.27
	0.35	0.36	0.37	0.38	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.45	0.45
34	979.42	978.14	976.97	975.60	974.34	973.08	971.83	970.58	969.32	968.05	1.27
	0.35	0.36	0.37	0.38	0.39	0.40	0.41	0.43	0.44	0.45	0.45
35	979.07	977.78	976.50	975.22	973.95	972.68	971.42	970.15	968.88	967.60	1.29
	0.37	0.37	0.38	0.38	0.39	0.40	0.42	0.43	0.44	0.45	0.45
36	978.70	977.41	976.12	974.84	973.56	972.28	971.00	969.72	968.44	967.15	1.31
	0.37	0.38	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.46
37	978.33	977.03	975.73	974.44	973.15	971.86	970.57	969.28	967.99	966.69	1.32
	0.38	0.39	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.46	0.47	0.47
38	977.95	976.64	975.34	974.04	972.74	971.44	970.14	968.84	967.53	966.22	1.33
	0.39	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.48	0.48
39	977.56	976.25	974.94	973.63	972.32	971.01	969.70	968.39	967.07	965.74	1.34
	0.39	0.40	0.41	0.42	0.42	0.43	0.45	0.47	0.48	0.49	0.49
40	977.17	975.85	974.53	973.21	971.90	970.58	969.25	967.92	966.59	965.25	1.35



表 3(续)

温度 ℃	酒精体积分数/%										
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
0	977.56 0.15	976.86 0.17	976.17 0.20	975.47 0.22	974.75 0.24	974.03 0.27	973.29 0.30	972.52 0.32	971.72 0.35	970.89 0.37	970.02 0.39
1	977.41 0.17	976.69 0.19	975.97 0.21	975.25 0.24	974.51 0.26	973.76 0.29	972.99 0.31	972.20 0.34	971.37 0.36	970.52 0.38	969.63 0.41
2	977.24 0.18	976.50 0.20	975.76 0.23	975.01 0.25	974.25 0.27	973.47 0.29	972.68 0.32	971.86 0.34	971.01 0.36	970.14 0.38	969.22 0.40
3	977.06 0.18	976.30 0.21	975.53 0.23	974.76 0.25	973.98 0.28	973.18 0.30	972.36 0.32	971.52 0.34	970.65 0.36	969.76 0.39	968.82 0.42
4	976.98 0.20	976.09 0.22	975.30 0.24	974.51 0.26	973.70 0.28	972.88 0.30	972.04 0.33	971.18 0.35	970.29 0.38	969.37 0.40	968.40 0.41
5	976.68 0.21	975.87 0.23	975.06 0.25	974.25 0.27	973.42 0.30	972.58 0.33	971.71 0.34	970.83 0.37	969.91 0.39	968.97 0.41	967.99 0.43
6	976.47 0.22	975.64 0.24	974.81 0.26	973.97 0.28	973.12 0.30	972.25 0.32	971.37 0.35	970.46 0.37	969.52 0.39	968.56 0.41	967.56 0.43
7	976.25 0.23	975.40 0.25	974.55 0.27	973.69 0.29	972.82 0.31	971.93 0.33	971.02 0.35	970.09 0.37	969.13 0.39	968.15 0.42	967.13 0.44
8	976.02 0.24	975.15 0.26	974.28 0.28	973.40 0.30	972.51 0.32	971.60 0.34	970.67 0.36	969.72 0.39	968.74 0.41	967.73 0.43	966.69 0.45
9	975.78 0.25	974.89 0.27	974.00 0.29	973.10 0.31	972.19 0.33	971.26 0.35	970.31 0.37	969.33 0.39	968.33 0.41	967.30 0.43	966.24 0.45



表 3(续)

温度/ ℃	酒精体积分数/%											
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
10	0.91	0.91	0.91	0.93	0.95	0.97	0.99	1.00	0.98	1.02	0.96	1.01
	0.27	0.28	0.30	0.32	0.34	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44	0.45	0.47
11	0.92	0.93	0.93	0.94	0.97	0.99	1.02	1.02	0.97	1.04	1.07	1.13
	0.27	0.29	0.31	0.33	0.35	0.37	0.40	0.42	0.44	0.44	0.46	0.46
12	0.94	0.94	0.95	0.97	0.99	1.01	1.03	1.03	0.99	1.06	1.09	1.15
	0.28	0.30	0.32	0.34	0.36	0.38	0.39	0.41	0.43	0.45	0.47	0.47
13	0.96	0.97	0.97	0.98	1.01	1.02	1.05	1.05	0.98	1.08	1.11	1.17
	0.29	0.31	0.33	0.35	0.37	0.38	0.40	0.42	0.44	0.45	0.47	0.47
14	0.98	0.99	0.99	1.01	1.02	1.04	1.07	1.07	0.98	1.10	1.12	1.19
	0.30	0.32	0.33	0.35	0.37	0.39	0.41	0.43	0.45	0.47	0.49	0.49
15	1.00	1.00	1.02	1.03	1.04	1.06	1.09	1.09	0.97	1.12	1.14	1.20
	0.31	0.33	0.35	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44	0.45	0.47	0.49	0.49
16	1.02	1.02	1.03	1.05	1.06	1.08	1.11	1.11	0.97	1.13	1.16	1.22
	0.31	0.33	0.35	0.37	0.38	0.40	0.42	0.43	0.45	0.47	0.49	0.49
17	1.04	1.04	1.04	1.06	1.08	1.10	1.12	1.12	0.97	1.15	1.18	1.24
	0.33	0.34	0.36	0.38	0.40	0.42	0.43	0.45	0.47	0.48	0.50	0.50
18	1.05	1.06	1.06	1.08	1.10	1.11	1.14	1.14	0.96	1.17	1.19	1.26
	0.34	0.35	0.36	0.38	0.40	0.42	0.44	0.46	0.47	0.49	0.50	0.50
19	1.06	1.07	1.07	1.10	1.11	1.13	1.16	1.16	0.96	1.18	1.21	1.28
	0.35	0.37	0.39	0.40	0.41	0.42	0.45	0.46	0.48	0.51	0.52	0.52



表 3(续)

温度 ℃	酒精体积分数/%											
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
20	972.48	971.40	979.31	969.21	968.10	966.97	965.81	964.64	963.44	962.21	960.95	1.29
	0.36	0.37	0.39	0.40	0.42	0.44	0.45	0.47	0.49	0.50	0.52	
21	972.12	971.03	969.92	968.81	967.68	966.53	965.36	964.17	962.95	961.71	960.43	1.31
	0.36	0.38	0.39	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48	0.49	0.51	0.52	
22	971.76	970.65	969.53	968.40	967.25	966.09	964.90	963.69	962.46	961.20	959.91	1.32
	0.37	0.39	0.40	0.42	0.43	0.45	0.46	0.48	0.50	0.52	0.53	
23	971.39	970.26	969.13	967.98	966.82	965.64	964.44	963.21	961.96	960.68	959.38	1.33
	0.38	0.39	0.41	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.51	0.53	0.54	
24	971.01	969.87	968.72	967.56	966.38	965.18	963.96	962.72	961.45	960.16	958.84	1.34
	0.39	0.40	0.42	0.44	0.45	0.46	0.48	0.50	0.51	0.53	0.54	
25	970.62	969.47	968.30	967.12	965.93	964.72	963.48	962.22	960.94	959.63	958.30	1.36
	0.39	0.41	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.50	0.52	0.53	0.55	
26	970.23	969.06	967.88	966.68	965.47	964.24	962.99	961.72	960.42	959.10	957.75	1.38
	0.41	0.42	0.44	0.45	0.46	0.48	0.50	0.51	0.52	0.53	0.55	
27	969.82	968.64	967.44	966.23	965.01	963.76	962.49	961.21	959.90	958.57	957.20	1.40
	0.41	0.43	0.44	0.46	0.48	0.49	0.50	0.52	0.53	0.55	0.56	
28	969.41	968.21	967.00	965.77	964.53	963.27	961.99	960.69	959.37	958.02	956.64	1.41
	0.42	0.43	0.45	0.46	0.48	0.49	0.50	0.52	0.54	0.55	0.56	
29	968.99	96778	966.55	965.31	964.05	962.78	961.49	960.17	958.83	957.47	956.08	1.43
	0.43	0.45	0.46	0.47	0.48	0.50	0.52	0.53	0.54	0.56	0.58	



表 3(续)

温度/ ℃	酒精体积分数/%											
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
30	968.56 0.43	967.33 0.44	966.09 0.45	964.84 0.47	963.57 0.49	962.28 0.51	960.97 0.52	959.64 0.53	958.29 0.55	956.91 0.56	955.50 0.58	
31	968.13 0.45	966.89 0.46	965.64 0.48	964.37 0.49	963.08 0.50	961.77 0.51	960.45 0.52	959.11 0.54	957.74 0.56	956.35 0.57	954.92 0.58	
32	967.68 0.45	966.43 0.47	965.16 0.48	963.88 0.50	962.58 0.51	961.26 0.52	959.93 0.54	958.57 0.55	957.18 0.56	955.78 0.58	954.34 0.59	
33	967.23 0.45	965.96 0.47	964.68 0.49	963.38 0.50	962.07 0.51	960.74 0.52	959.39 0.54	958.02 0.55	956.62 0.56	955.20 0.58	953.75 0.60	
34	966.78 0.47	965.49 0.48	964.19 0.49	962.88 0.50	961.56 0.52	960.22 0.54	958.85 0.55	957.47 0.57	956.06 0.58	954.62 0.59	953.15 0.60	
35	996.31 0.47	965.01 0.48	963.70 0.49	962.38 0.51	961.04 0.53	959.68 0.54	958.0 0.54	956.90 0.57	955.48 0.59	954.03 0.60	952.55 0.61	
36	965.84 0.47	964.53 0.48	963.21 0.50	961.87 0.52	960.51 0.53	959.14 0.55	957.75 0.56	956.33 0.57	954.89 0.58	953.43 0.60	951.94 0.61	
37	965.37 0.48	964.05 0.50	962.71 0.51	961.35 0.52	959.98 0.54	958.59 0.55	957.19 0.57	955.76 0.58	954.31 0.59	952.83 0.60	951.33 0.61	
38	964.89 0.49	963.55 0.51	962.20 0.52	960.83 0.53	959.44 0.54	958.04 0.56	956.62 0.57	955.18 0.58	953.72 0.60	952.23 0.61	950.72 0.62	
39	964.40 0.50	963.04 0.51	961.68 0.53	960.30 0.54	958.90 0.55	957.48 0.56	956.05 0.58	954.60 0.60	953.12 0.61	951.62 0.62	950.10 0.64	
40	963.90 0.50	962.53 0.51	961.15 0.53	959.76 0.54	958.35 0.55	956.92 0.56	955.47 0.58	954.00 0.60	952.51 0.61	951.00 0.62	949.49 0.64	

表 4 20℃的水-酒精混合物和馏出液折射率和酒精度关系对照表

折射率(20℃)	20℃酒精体积分数/%				折射率(20℃)	20℃酒精体积分数/%			
	水-乙醇混合物		蒸馏液			水-乙醇混合物		蒸馏液	
1.336 28	6.54	0.25	6.48	0.26	1.340 53	13.93	0.23	13.86	0.23
1.336 42	6.79	0.26	6.74	0.26	1.340 67	14.16	0.25	14.09	0.23
1.336 56	7.05	0.25	7.00	0.27	1.340 81	14.41	0.25	14.32	0.25
1.336 70	7.30	0.28	7.27	0.27	1.340 96	14.66	0.23	14.57	0.24
1.336 85	7.58	0.25	7.54	0.25	1.341 10	14.89	0.24	14.81	0.25
1.336 99	7.83	0.26	7.79	0.26	1.341 24	15.13	0.23	15.06	0.22
1.337 13	8.09	0.25	8.05	0.25	1.341 38	15.36	0.23	15.28	0.22
1.337 27	8.34	0.28	8.30	0.26	1.341 52	15.59	0.24	15.50	0.24
1.337 42	8.62	0.25	8.56	0.25	1.341 66	15.83	0.23	15.74	0.22
1.337 56	8.87	0.25	8.81	0.25	1.341 80	16.06	0.23	15.96	0.23
1.337 70	9.12	0.24	9.06	0.24	1.341 94	16.29	0.23	16.19	0.22
1.337 84	9.36	0.27	9.30	0.25	1.342 08	16.52	0.24	16.41	0.24
1.337 99	9.63	0.24	9.55	0.26	1.342 22	16.76	0.23	16.65	0.23
1.338 13	9.87	0.25	9.81	0.24	1.342 36	16.99	0.23	16.88	0.24
1.338 27	10.12	0.23	10.05	0.24	1.342 50	17.22	0.22	17.12	0.22
1.338 41	10.35	0.26	10.29	0.25	1.342 64	17.44	0.24	17.34	0.22
1.338 56	10.61	0.25	10.54	0.24	1.342 78	17.68	0.21	17.56	0.22
1.338 70	10.86	0.24	10.78	0.24	1.342 91	17.89	0.23	17.78	0.23
1.338 84	11.10	0.23	11.02	0.24	1.343 05	18.12	0.24	18.01	0.22
1.338 98	11.33	0.24	11.26	0.24	1.343 19	18.36	0.23	18.23	0.23
1.339 12	11.47	0.24	11.50	0.24	1.343 33	18.59	0.23	18.46	0.24
1.339 26	11.81	0.24	11.74	0.24	1.343 47	18.82	0.23	18.70	0.22
1.339 40	12.05	0.25	11.98	0.24	1.343 61	19.05	0.23	18.92	0.25
1.339 55	12.30	0.23	12.22	0.24	1.343 75	19.28	0.23	19.17	0.23
1.339 69	12.53	0.23	12.46	0.23	1.343 89	19.51	0.24	19.40	0.22
1.339 83	12.76	0.24	12.69	0.23	1.344 03	19.75	0.23	19.62	0.24
1.339 97	13.00	0.23	12.92	0.23	1.344 17	19.98	0.24	19.86	0.23
1.340 11	13.23	0.24	13.15	0.25	1.344 31	20.22	0.22	20.09	0.24
1.340 25	13.47	0.23	13.40	0.22	1.344 45	20.44	0.21	20.33	0.21
1.340 39	13.70	0.23	13.62	0.24	1.344 58	20.65	0.24	20.54	0.22

表4(续)

折射率(20℃)	20℃酒精体积分数/%				折射率(20℃)	20℃酒精体积分数/%			
	水-乙醇混合物		蒸馏液			水-乙醇混合物		蒸馏液	
1.344 72	20.89	0.22	20.76	0.23	1.346 37	23.57	0.24	23.40	0.21
1.344 86	21.11	0.23	20.99	0.22	1.346 51	23.81	0.23	23.61	0.24
1.345 00	21.34	0.21	21.21	0.23	1.346 65	24.04	0.22	23.85	0.24
1.345 13	21.55	0.23	21.44	0.21	1.346 78	24.26	0.22	24.09	0.22
1.345 27	21.78	0.22	21.65	0.22	1.346 92	24.48	0.24	24.31	0.25
1.345 41	22.00	0.23	21.87	0.23	1.347 06	24.72	0.23	24.56	0.22
1.345 55	22.23	0.21	22.10	0.21	1.347 20	24.95	0.21	24.78	0.22
1.345 68	22.44	0.23	22.31	0.23	1.347 33	25.16	0.24	25.00	0.23
1.345 82	22.67	0.23	22.54	0.21	1.347 47	25.40	0.22	25.23	0.22
1.345 96	22.90	0.23	22.75	0.21	1.347 60	25.62	0.24	25.45	0.25
1.346 10	23.13	0.20	22.96	0.21	1.347 74	25.86	0.24	25.70	0.23
1.346 23	23.33	0.24	23.17	0.23	1.347 88	26.10	0.22	25.93	0.22

参 考 文 献

- [1] HANAK A. . Chem. Zgt. . 1932. 56. 984.
- [2] COLOMBIER L. . CLAIR E. . Ann. Fals. Fraudes. 1936. 29. 411.
- [3] POZZI-ESCOT E. . Ind. Agr. Aliment. . 1949. 66. 119.
- [4] JAULMES P. . Analyse desvins. 1951. 49.
- [5] SCHNEYDER J. . Mitt. Klosterneuburg. Rebe und Wein. 1960. 10. 228.
- [6] SCHNEYDER J. . KASCHNITZ L. . Mitt. Klosterneuburg. Rebe und Wein. 1965. 15. 132.
- [7] NEWTON W. . MURNO F. L. . Can. Chem. Met. . 1933. 17. 119.
- [8] SAMPIETRO C. . INVERNIZZI I. . Ann. Chem. Appl. . 1940. 30. 381.
- [9] FISCHL P. F. . Food Manufacture. 1942. 17. 198.
- [10] JAULMES P. . LAVAL J. P. . Trav. Soc. Pharm. Montpellier. 1961. 21. 21.
- [11] JAULMES P. . BRUNMme S. . LAVAL J. P. . Ann. Fals. Exp. Chim. . 1965. 58. 304; Bull. Union National. OEnologues. 1964. 13. 17.
- [12] TABLES ALCOOMETRIQUES FRANCAISES. J. O. Républ. française. 30 déc. 1884. 6895.
- [13] WINDISCH K. . d'après LUNGE G. . BERL E. . Chem. techn. Untersuchungs Methoden.
- [14] Berlin 1924. 7e éd. . 1893. 4. 274.
- [15] OSBORNE N. S. . MCKELVY E. C. . BEARCE H. W. . Bull. Bur. of Standards. Washington. 1913. 9. 328.
- [16] FROST A. V. . Recherches dans le domaine du poids spécifique des mélanges d'alcool éthylique et d'eau. Institut des réactifs chimiques purs. U. R. S. S. . 1930. No. 9. d'après J. SPAEPEN.
- [17] HEIDE C. von der. MANDLEN H. . Z. Untersuch. Lebensm. . 1933. 66. 338.
- [18] KOYALOVICS B. . 8e Conférence générale des Poids et Mesures. Moscou 1933.

- [19] FERTMANN G. I. . Tables derenseignements pour le contrle de la fabrication de l'alcool. Pischerpoomizdat, Moscou 1940.
- [20] REICHARD O. . Neue Alkohol u. Extract. . Tafel 20°/20°. Verlag Hans Carl, Nürnberg 1951.
- [21] JAULMES P. . MARIGNAN R. . Ann. Fals. Fraudes. 1953. 46. 208 et 336.
- [22] SPAEPEN J. . Rev. de Métrologie. 1955. 411; Bull. belge de Métrologie. 1955. numéro d'avril.
- [23] JAULMES P. . BRUNMme S. . Ann. Fals. Exp. Chim. . 1963. 46. 143; 1965. 48. 58; 1966. 49. 35; 1967. 50. 101-147; Trav. Soc. Pharm. Montpellier. 1966. 26. 37 et 111.
- [24] JAULMES P. . MARIGNAN R. . Bull. O. I. V. . 1953. 274. 28. 32.
- [25] JAULMES P. . BRUNMme S. . TEP Y. . Trav. Soc. Pharm. . 1968. 28. 111.
- [26] KAWASAKI T. . MINOVA Z. . INAMATSU T. . A newalcoholometric specific gravity table. National Research of Metrology. Tokio 1967.
- [27] TEP Y. . Etude d'une table alcoométrique internationale. Thèse Doc. Pharm. Montpellier. 1968.



甲醇(气相色谱法)

(决议 Oeno 377/2009)

1 原理

用内标法在气相色谱仪上测定葡萄酒馏出液中甲醇的含量。

2 方法

2.1 仪器

配有氢火焰离子化检测器(FIO)的气相色谱仪。

色谱柱:

——Chromosorb W, 60目~80目,涂有10%的聚乙二醇1540涂层,装入长7.5 m,直径1/8"的不锈钢柱。

——Chromosorb W, 60目~80目,涂有5%的聚乙二醇400涂层和1%的Hallcomid M. 18 OL担体,装入长7.5 m,直径1/8"的不锈钢柱。

上述两种情况下,Chromosorb W需先在750℃~800℃烘箱中活化4 h。

注:其他相似类型的色谱柱也能达到较好的分离。下述步骤仅供参考。

3 步骤

用10%乙醇配制1 g/L 4-甲基-戊醇内标液。

试液制备,取50 mL按“酒精度”一章中所得到的葡萄酒馏出液,加入5 mL内标液。

用10%乙醇配制100 mg/L甲醇标准溶液。

在50 mL标准溶液中加入5 mL内标液。

分别取加有内标的待测液与标准溶液各2 μL,进行色谱分析。

柱温:90℃;气流速度:25 mL/min。

4 计算

$$100 \times \frac{I}{i} \times \frac{S_x}{S}$$

其中:S——标准溶液中甲醇的峰面积;

S_x ——样品溶液中甲醇的峰面积;

i ——样品溶液中内标物的峰面积;

I ——标准溶液中内标物的峰面积。

甲醇浓度单位为:mg/L。

甲醇(比色法)

(决议 Oeno 377/2009)

1 原理

将葡萄酒馏出液稀释,使其酒精度为 5%。用磷酸酸化馏出液,用高锰酸钾将甲醇氧化成甲醛。在硫酸存在下,甲醛与变色酸反应呈紫色,用分光光度计在 575 nm 处测定吸光度。根据颜色的强度,测定甲醛含量。

2 方法

2.1 试剂

2.1.1 变色酸。

4,5-二羟基-2,7-萘二磺酸($C_{10}H_8O_8S_2 \cdot 2H_2O$, 相对分子质量 356.34 g), 为白色或浅棕色粉末, 能溶于水。也可使用其二钠盐, 为黄色或浅棕色, 易溶于水。

提纯——要求使用纯的变色酸, 在试剂的空白试验中不能产生颜色干扰。否则, 需要根据下述步骤进行纯化:

将 10 g 变色酸或其盐溶解在 25 mL 蒸馏水中。如果使用其二钠盐, 加入 2 mL 浓硫酸 (1.84 g/mL) 使其释放出酸。加入 50 mL 甲醇, 加热至沸腾并过滤。加入 100 mL 异丙醇, 使结晶的变色酸沉淀, 冷却脱水结晶。

反应——向 10 mL 0.1 g/L 的溶液中加入一滴氯化铁, 溶液呈绿色。

活性测试——用水将 0.5 mL 甲醛(分析纯)稀释至 1 L。在 75%(V/V) 硫酸溶液中加入 5 mL 0.05% 变色酸溶液, 加入 0.1 mL 上述甲醛溶液, 加热至 70°C, 保持 20 min, 产生紫色。

2.1.2 用 75%(V/V) 硫酸溶液配制 0.05% 变色酸溶液。

将 50 mg 变色酸或其钠盐溶解在 35 mL 蒸馏水中。用冰水冷却溶液, 分次小心加入 75 mL 浓硫酸(1.84 g/mL), 不停地摇动。该溶液应现配现用。

2.1.3 用 5% 乙醇配制 0.5 g/L 甲醇标准溶液。

纯甲醇($E_{760} = 64.7 \pm 0.2$)	0.5 g
无甲醇乙醇	50 mL
加蒸馏水至	1 L

2.1.4 稀释溶液

无甲醇乙醇	50 mL
加蒸馏水至	1 L

2.1.5 50% 磷酸溶液(m/V)。

2.1.6 5% 高锰酸钾溶液(m/V)。

2.1.7 2% 中性亚硫酸钠溶液(m/V)。

易被空气氧化, 需要用碘标定其浓度。



2.2 步骤

将葡萄酒馏出液(参照“酒精度”章节)稀释,使其酒精度为5%。

在带有磨砂塞的试管中加入0.5 mL稀释的馏出液,加入1滴50%磷酸,2滴5%高锰酸钾溶液,摇匀,放置10 min。

加几滴20%中性亚硫酸钠,一般加4滴(避免过量),使高锰酸钾褪色。加入5 mL 0.05%变色酸溶液,放入70℃水浴中水浴20 min,冷却。

用0.5 mL稀释溶液配制的质控液校正零点后,在570 nm处测定吸光度 A_s 。

在一系列50 mL容量瓶中,分别加入2.5 mL,5 mL,10 mL,15 mL,20 mL,25 mL 0.5 g/L的甲醇溶液,用5%乙醇溶液稀释至刻度。5%乙醇溶液中每升分别含有甲醇25 mg,50 mg,100 mg,150 mg,200 mg,250 mg。

同时处理0.5 mL乙醇稀释液和0.5 mL标准溶液,并用同样的方法处理葡萄酒馏出物使乙醇的浓度为5%。

在570 nm处测定上述溶液的吸光度。

溶液的吸光度与浓度变化呈线性关系。

2.3 计算

酒精度为5%的葡萄酒馏出液中甲醇含量为mg/L,在标准曲线上记作 A_s 。

葡萄酒中甲醇的含量表示为mg/L,计算时要考虑使馏出液稀释为酒精度为5%的稀释倍数。

甘油和 2,3-丁二醇

(决议 Oeno 377/2009)

1 原理

通过阴离子交换树脂的处理,使糖和大量甘露糖以及山梨糖醇固定下来,然后用高碘酸将甘油与 2,3-丁二醇氧化,分别产生甲醛和乙醛。用间苯三酚与甲醛(甘油氧化产物)作用,在 480 nm 波长处测定甲醛含量;用六氢吡啶及亚硝酸铁氰化钠与乙醛(2,3-丁二醇氧化产物)作用,在 570 nm 波长处测定乙醛含量。

2 仪器

- 2.1 玻璃柱,长约 300 mm,内径约 10 mm~11 mm,配有活塞。
- 2.2 可在 300 nm~700 nm 波长下测量的分光光度计,光程为 1 cm 的玻璃比色皿。

3 试剂

- 3.1 甘油, $C_3H_8O_3$ 。
- 3.2 2,3-丁二醇, $C_4H_{10}O_2$ 。
- 3.3 强碱性阴离子交换树脂,例如 Merck III 交换树脂或 Amberlite IRA 400 树脂。
- 3.4 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)(见国际葡萄酒药典)。
- 3.5 0.1 mol/L 高碘酸溶液(溶于 0.05 mol/L 硫酸中)。

称取 10.696 g 高碘酸钠($NaIO_4$),用 50 mL 0.5 mol/L 硫酸将上述高碘酸钠溶于 500 mL 容量瓶中,加蒸馏水至刻度。

- 3.6 0.05 mol/L 高碘酸(溶于 0.025 mol/L 硫酸中)。

用蒸馏水按体积比 1:1 稀释上述溶液(3.5)。

- 3.7 0.5 mol/L 硫酸溶液。
- 3.8 1 mol/L 氢氧化钠溶液。
- 3.9 5% 氢氧化钠溶液(m/V)。
- 3.10 96% 乙醇(V/V)。
- 3.11 2% 间苯三酚溶液(m/V),现配现用。
- 3.12 27% 醋酸钠溶液(m/V),由无水醋酸钠(CH_3COONa)制备。
- 3.13 2%(m/V)亚硝酸铁氰化钠 $[Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O]$ 溶液,现配现用。
- 3.14 25%(V/V)六氢吡啶($C_5H_{11}N$)溶液,现配现用。
- 3.15 2.5 g/L 甘油标准溶液:用酶法或滴定法(见第 3 章)测定甘油的含量。

甘油标准溶液制备:称取相当于 250 mg 纯甘油,用水定容至 100 mL。

- 3.16 2.5 g/L 2,3-丁二醇标准溶液:用滴定法(见第 3 章)测定 2,3-丁二醇的含量。

2,3-丁二醇标准溶液制备:称取相当于 250 mg 2,3-丁二醇,用水定容至 100 mL。

- 3.17 铜碱溶液。



铜溶液 A:

硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)40 g、硫酸($\rho=1.84 \text{ g/mL}$)2 mL,加水至 1 000 mL。

酒石酸碱溶液 B:

酒石酸钾钠($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)200 g、氢氧化钠 150 g,加水至 1 000 mL。

使用之前,将等量的溶液 A 和溶液 B 混合即可。

4 操作步骤

4.1 阴离子交换柱制备

阴离子交换树脂(以 Cl^- 形式存在)应保存在烧瓶内,浸泡于脱二氧化碳的蒸馏水中。

将 30 mL 阴离子交换树脂装入柱中。在柱子的上端放置一团玻璃棉,以隔绝空气。用 150 mL 5% 氢氧化钠溶液以 3.5 mL/min~5 mL/min 的流速通过树脂层,然后再用一定量脱二氧化碳的蒸馏水以同样的速度冲洗,直到洗液用酚酞试剂呈中性或微碱性为止。树脂备用。

阴离子交换树脂只能使用一次。再生时,可以用 5% 盐酸处理几小时,用水冲洗,直至冲洗的水中不再有氯化物为止(需验证不存在氯化物)。

4.2 样品制备

将葡萄酒稀释 5 倍。

如果葡萄酒的颜色很深,可预先用 PVPP 进行脱色:将 10 mL 葡萄酒置于 50 mL 容量瓶中,用 20 mL 水稀释,再加入 300 mg PVPP,不断搅拌,20 min 之后加水至刻度处,再用滤纸过滤。取 10 mL 稀释的葡萄酒(经过或未经过 PVPP 处理),使之通过阴离子交换树脂,使葡萄酒一滴一滴地流下,流速不得超过 2 mL/min。当葡萄酒液面距玻璃棉上 5 mm~10 mm 处,加入足量脱二氧化碳的蒸馏水,以 2 mL/min~3 mL/min 的流速,使洗出液的体积达 100 mL,直至洗出液中不含糖。验证时可取 5 mL 洗出液与 5 mL 铜碱液混合,快速煮沸,不应有任何变色或沉淀。

4.3 甘油测定

4.3.1 分光光度计检测

向一个带磨口玻璃塞的 100 mL 锥形瓶中加入 10 mL 洗出液,接着连续加入 10 mL 蒸馏水、10 mL 0.05 mol/L 高碘酸。搅拌,混合均匀,氧化 5 min(应准确计时)。然后再加入 10 mL 氢氧化钠溶液和 5 mL 96% 的乙醇(V/V)。每添加一种试剂后,混匀,然后再加入 10 mL 间苯三酚溶液。将溶液注入 1 cm 比色皿中,在 480 nm 波长下测定吸光度。所显示的紫色变化很快,在 50 s~60 s 时达到最深,然后逐渐变淡,记下最大吸光度。以空气作空白进行校正。

4.3.2 标准曲线制作

向几个 100 mL 容量瓶中分别加入 3.0 mL,4.0 mL,5.0 mL,6.0 mL,7.0 mL 和 8.0 mL 甘油标准溶液,再加蒸馏水至刻度。几种标准溶液对应的甘油浓度分别为:0.075 g/L,0.10 g/L,0.125 g/L,0.150 g/L,0.175 g/L 和 0.200 g/L。

按 4.3.1 所述进行测定,每次用同体积的标准溶液来代替洗出液。

4.4 2,3-丁二醇测定

4.4.1 分光光度计检测

向一个带磨口玻璃塞的 100 mL 锥形瓶中加入 20 mL 洗出液,再连续加入;5 mL 醋酸钠溶液、5 mL 0.1 mol/L 高碘酸溶液。缓缓搅拌使之混匀,静置氧化 2 min。然后加入:5 mL 亚硝酸铁氰化钠溶液、5 mL 六氢吡啶溶液。将溶液注入 1 cm 的比色杯中,在 750 nm 波长下测定吸光度。所显示的紫色变化很快,在 30 s~40 s 时颜色达到最深,然后逐渐变淡,记下最大吸光度,以空气作空白进行校正。

4.4.2 标准曲线建立制作

将 10 mL 2,3-丁二醇标准溶液置于 100 mL 容量瓶中,加蒸馏水至刻度。向几个 100 mL 容量瓶中分别加入 2.0 mL,4.0 mL,6.0 mL,8.0 mL 和 10.0 mL 此丁二醇标准溶液,加蒸馏水至刻度。

几种标准溶液对应 2,3-丁二醇浓度分别为:0.005 g/L,0.010 g/L,0.015 g/L,0.020 g/L,0.025 g/L。

按 4.4.1 所述进行测定,每次用同体积的标准溶液来代替洗出液。

5 计算结果

5.1 甘油

在标准曲线上读取甘油含量,结果用 g/L 表示,保留一位小数。

5.2 2,3-丁二醇

在标准曲线上读取 2,3-丁二醇含量,结果用 g/L 表示,保留两位小数。

6 滴定法测定甘油和 2,3-丁二醇

6.1 试剂

6.1.1 1 mol/L 氢氧化钠溶液。

6.1.2 0.5 mol/L 硫酸溶液。

6.1.3 0.025 mol/L 高碘酸溶液。

6.1.4 8%(m/V)碳酸氢钠溶液。

6.1.5 0.025 mol/L 亚砷酸钠溶液。

在 1 000 mL 容量瓶中,将 2.473 g 三氧化二砷 As_2O_3 溶于 30 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液中,加入 35 mL 0.5 mol/L 硫酸,加蒸馏水至刻度。

6.1.6 0.025 mol/L 碘液。

6.1.7 10%(m/V)碘化钾溶液。

6.1.8 2%(m/V)淀粉溶液。

6.2 步骤

在 300 mL 锥形瓶中加入 5 mL 甘油标准溶液和 45 mL 蒸馏水,或 25 mL 2,3-丁二醇标准溶液和 25 mL 蒸馏水;再加入 20 mL 0.025 mol/L 高碘酸溶液,不时振摇 15 min;然后加入 10 mL~20 mL 碳酸氢钠溶液、20 mL 亚砷酸钠溶液;不时振摇 15 min,后加入 5 mL 碘化钾



溶液、2 mL 淀粉溶液；用 0.025 mol/L 碘溶液滴定过量亚砷酸钠。

同时，用 50 mL 蒸馏水加同样量的试剂作空白试验。

6.3 计算方法

6.3.1 甘油

1 mL 0.025 mol/L 高碘酸可以氧化 1.151 mg 甘油。

甘油标准溶液中的甘油含量(g/L)：

$$G = \frac{(X-B) \times 1.151}{\alpha}$$

甘油标准溶液(3.15)中甘油的百分含量为：

$$X = \frac{G}{2.5} \times 100$$

其中：X——标准溶液所消耗的 0.025 mol/L 碘溶液的体积(mL)；

B——空白试验所消耗的 0.025 mol/L 碘溶液的体积(mL)；

α ——标准溶液的体积(等于 5 mL)，mL。

6.3.2 2,3-丁二醇

1 mL 0.025 mol/L 高碘酸可以氧化 2.253 mg 2,3-丁二醇。

2,3-丁二醇标准溶液中的 2,3-丁二醇含量(g/L)：

$$BD = \frac{(X'-B') \times 2.253}{b}$$

2,3-丁二醇标准溶液中 2,3-丁二醇的百分含量为：

$$\frac{BD}{2.5} \times 100$$

其中：X'——标准溶液所消耗的 0.025 mol/L 碘溶液的体积(mL)；

B'——空白试验所消耗的 0.025 mol/L 碘溶液的体积(mL)；

b——标准溶液的体积(等于 25 mL)。

参 考 文 献

[1] REBELEIN H., Z. Lebensm. Unters. u. Forsch., 1957, 4, 296, F. V., O. I. V., no 63.

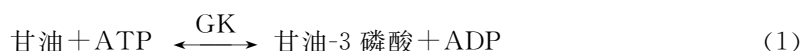
[2] TERCERO C., SANCHEZ O., F. V., O. I. V., 1977, no 651 et 1981, no 731.

甘油(酶法)

(决议 Oeno 377/2009)

1 原理

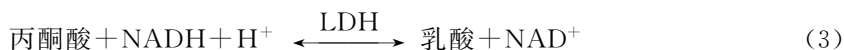
在甘油激酶(GK)的催化作用下,甘油可与三磷酸腺苷(ATP)进行磷酸化反应生成甘油-3-磷酸(1):



所生成的二磷酸腺苷(ADP)在丙酮酸激酶(PK)的作用下,被磷酸烯醇丙酮酸(PEP)转化成 ATP,同时生成丙酮酸(2):



丙酮酸在乳酸脱氢酶(LDH)存在时,被还原剂烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)还原成乳酸:



在反应过程中所生成的 NAD^+ 的数量与甘油数量成正比。 NADH 的氧化程度通过它在 334 nm、340 nm 或 365 nm 波长处的衰减程度来测定。

2 仪器

2.1 NADH 在 340 nm 有最大吸收,因此可以用分光光度法进行测定。若使用不连续分光光度计,可在 334 nm 或 365 nm 条件下进行测量。

2.2 光程为 1 cm 的玻璃比色皿或一次性比色皿。

2.3 0.02 mL~2 mL 容积的微量移液器。

3 试剂

3.1 缓冲溶液(0.75 mol/L 甘氨酸, $\text{Mg}^{2+} = 10^{-3}$ mol/L, $\text{pH} = 7.4$)

将 10.0 g 甘氨酸和 0.25 g 硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$)溶于约 80 mL 双蒸水中,加入约 2.4 mL 5 mol/L 的氢氧化钠溶液使 $\text{pH} = 7.4$,再加双蒸水至 100 mL 刻度。此溶液可在 4°C 下保存约 3 个月。

3.2 NADH (8.2×10^{-3} mol/L), ATP (33×10^{-3} mol/L), PEP (46×10^{-3} mol/L)

将 42 mg 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸二钠、120 mg 三磷酸腺苷、60 mg 磷酸烯醇丙酮酸、300 mg 碳酸氢钠、溶于 6 mL 双蒸水中。此溶液可在 4°C 下可保存 2 d~3 d。

3.3 丙酮酸激酶/乳酸脱氢酶(PK/LDH):(PK:3 mg/mL, LDH:1 mg/mL)

使用不经稀释的悬浮液。此混合液在 4°C 下约可保存 1 年。

3.4 甘油激酶 GK(1 mg/mL)

此悬浮液在 4°C 下大约可保存 1 年。

4 样品的制备

葡萄酒中的甘油一般可直接进行测定,先用双蒸水将葡萄酒稀释,使甘油的含量为 30 mg/L~500 mg/L(试样中甘油含量为 3 μg~50 μg)。通常稀释至 1/50(100 mL 中含 2 mL)即可。

5 步骤

在 340 nm 波长,光程 1 cm 的比色皿中进行吸光度测定,用空气做空白对照。

在光程 1 cm 的各个比色皿中加入:

	对照皿	样品皿
溶液 3.1	1.00 mL	1.00 mL
溶液 3.2	0.10 mL	0.10 mL
样品	0.10 mL	
	对照皿	样品皿
水	2.00 mL	1.90 mL
悬浮液 3.3	0.01 mL	0.01 mL

混匀,约 5 min 后,分别读取吸光度 A_1 。

然后分别加入 0.01 mL 悬浮液混合,等待反应进行完毕(约 5 min~10 min)后,分别读取溶液的吸光度 A_2 。10 min 后再次读取吸光度,每 2 min 检查一次,直至在 2 min 内吸光度恒定为止。

计算两次吸光度之差:

$$A_2 - A_1$$

计算对照皿和样品皿吸光度的差值。

从样品皿的吸光度(ΔA_D)中减去对照皿的吸光度(ΔA_T),得出:

$$\Delta A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

6 结果表示

浓度可由下式计算:

$$c = \frac{V \times PM}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A$$

其中: V ——实验所用液体的总体积(3.12 mL);

v ——试样体积(0.1 mL);

PM ——待测量物质的相对分子质量(92.1);

d ——比色皿量程(1 cm);

ϵ ——NADH 在波长 340 nm 处的吸光系数, $\epsilon = 6.3(\text{L} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$ 。

代入后得出

$$c = 0.456 \times \Delta A \times F$$

其中, F 为稀释因子。

注:

在 334 nm 波长处测量时, $\epsilon=6.2(\text{L} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$ 。

$$c=0.463 \times \Delta A \times F$$

在 356 nm 波长处测量时, $\epsilon=3.4(\text{L} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$ 。

$$c=0.845 \times \Delta A \times F$$

参 考 文 献

- [1] BOERHINGER, Mannheim, Methods of Enzymatic and chemical analysis, documentation technique.



稳定同位素比质谱仪测定葡萄汁、浓缩葡萄汁或葡萄 发酵产生乙醇¹³C/¹²C 的同位素比

(决议 Oeno 17/2001)

1 应用范围

本方法用于测定葡萄酒、葡萄发酵产品(包括葡萄汁、浓缩葡萄汁、葡萄浆果)发酵产生乙醇¹³C/¹²C 的比例。

2 参考标准

ISO 5725-2:1994 测定方法和结果的精密度(真实性和精确性) 第2部分:标准测量方法重复性和再现性检测的基本方法

V-PDB; Vienna-Pee-Dee Belemnite($R_{\text{PDB}}=0.011\ 237\ 2$)

OIV 方法:核磁共振(RMN-FINS)在葡萄汁、浓缩葡萄汁、葡萄和葡萄酒检测中的应用

3 术语和定义

¹³C/¹²C:样品中¹³C 和¹²C 的比例。

δ¹³C:碳 13 的含量,表示为千分之一(‰)。

RMN-FINS:核磁共振用于研究具体的天然同位素的比例值。

V-PDB: Vienna-Pee-Dee Belemnite. 或 PDB,是衡量¹³C 含量在自然中变化的主要方法。碳酸钙来源于美国北卡罗来纳州 Pee Dee 结构的白垩纪箭石属岩石。它的¹³C/¹²C 值或 R_{PDB} 为 0.011 237 2。PDB 的含量经过长时间的消耗,但是它的¹³C 含量变化具有自然规律。维也纳(奥地利)的国际原子能机构用它的含量对标准物质进行刻度。用 V-PDB 表示¹³C 的自然含量,已经成为一个惯例。

m/z :质量与电荷比。

4 原理

在光合作用中,植物吸收二氧化碳气体有两种主要机理: C_3 机理(Calvin 循环)和 C_4 机理(Hatch 和 Slack 循环)。这两种机理呈现出一个不同类型的同位素组成。一些产物,例如糖和酒精,分别来源于 C_4 植物和发酵,它们与 C_3 植物相比,¹³C 的含量更高。绝大多数植物,例如葡萄和甜菜,属于 C_3 植物类型。甘蔗和玉米属于 C_4 植物类型。通过检测¹³C 的含量,能够检测出添加到葡萄酒产品(葡萄汁、葡萄酒)中来源于 C_4 植物(甘蔗或者谷物中糖的代用物)的糖。通过¹³C 含量并结合来源于 RMN-FINS 的信息,能够量化这些添加的混合糖,以及来源于 C_3 和 C_4 植物的酒精。

¹³C 的含量是用样品完全燃烧生成的二氧化碳气体来衡量。这些来源于同位素¹⁸O,¹⁷O,¹⁶O,¹³C 和¹²C 的不同组合方式的主要同位素 44(¹²C ¹⁶O₂), 45(¹³C ¹⁶O₂ 或 ¹²C ¹⁷O ¹⁶O) 和 46(¹²C ¹⁶O ¹⁸O) 的丰度,可以以离子流的形式被同位素比质谱仪的三种不同捕获器测定。

由于¹³C ¹⁷O¹⁶O 或 ¹²C ¹⁷O₂的同位素组合含量比较少,有时候可以忽略。因此在同时考虑¹⁸O 或¹⁷O(Craig 校正)相对丰度的条件下,可以通过 $m/z=46$ 离子强度来校正由¹²C ¹⁷O ¹⁶O 提供的 $m/z=45$ 离子流值。通过标准值和国际标准 VPDB 推荐值的比较差值 $\delta^{13}\text{C}$,就能够计算¹³C 的含量。

5 试剂

试剂和消耗品取决于实验室所使用的仪器(6)。分析体系一般建立在元素分析的基础上。仪器装备可以放入密封在金属杯中的样品或用注射针通过隔膜注射的液体样品。

实验设备使用推荐的试剂、反应物和消耗物品:

——反应物

国际原子能机构使用的标准材料:

名称	材料	$\delta^{13}\text{C}$ 和 V-PDB
——IAEA-CH-6	蔗糖	-10.4 ‰
——IAEA-CH-7	聚乙烯	-31.8 ‰
——NBS22	石油	-29.7 ‰
——USGS24	石墨	-16.1 ‰

Geel 的 IRMM 协会使用的材料:

名称	材料	$\delta^{13}\text{C}$ 和 V-PDB
——CRM 656	葡萄酒精	-26.93 ‰
——CRM 657	葡萄糖	-10.75 ‰
——CRM 660	酒精水溶液 (TAV 12%)	-26.72 ‰

已知¹³C/¹²C 比例的国际标准物。

下面所列的是一些气体的消耗品标准:

——氦气;

——氧气;

——作为二级标准的 CO₂ 气体;

——烘箱和燃烧系统的氧化试剂:用于元素分析的氧化铜;

——用于去除燃烧中产生水的干燥剂,如:无水高氯酸镁。

设备中无需配制冷凝阱或高选择性渗透毛细管除水装置。

6 仪器和材料

6.1 同位素质谱仪(IRMS)

同位素质谱仪(IRMS)能检测出自然界中二氧化碳气体中¹³C 的相对含量或表示为相对值,内部精密度可达 0.05‰。内部精密度指对同一二氧化碳气体样品进行 2 次测定的差值。同位素质谱仪通常配置可以同时测定 m/z 分别为 44、45、46 的三个捕获器。IRMS 必须安装一个双通道的进样器,以便交替测量未知样品和参考物质,或者使用一个整体系统,可以实现样品充分燃烧,且能够在质谱检测前把二氧化碳从其他燃烧物中分离出来。



6.2 燃烧装置

燃烧装置能够把乙醇转化为二氧化碳而且能够去除其他的燃烧产物——水,而没有同位素分馏。这种装置可以是与质谱连接在一起的整体有持续气流的系统,或是一个自动燃烧系统。它的精度必须达到上述所提的要求。

6.2.1 持续气流系统

由元素分析仪,或者安装了在线燃烧系统的气相色谱构成。

系统中使用到以下材料将装在金属杯中的样品引入分析系统:

- 适量的锥形微量移液器,精度达到微克(μg)或者更高;
- 密封用的镊子;
- 液体样品用的锡杯;
- 固体样品用的锡杯。

当使用配有液体进样器的元素分析仪或燃烧色谱的前处理系统,需要使用到下面的实验材料:

- 液体注射器;
- 安装了密封系统或惰性隔片的烧瓶。

根据实验室所使用的燃烧系统类型和质谱仪,可使用其他的同类材料代替上述实验材料。

6.2.2 自动前处理系统

来源于样品燃烧后的二氧化碳气体和收集到球形管中的标样,被引入到一个双通道质谱分析系统进行同位素分析,下面是所使用的几种燃烧装置:

- 氧循环的封闭性燃烧系统;
- 氦气和氧气的元素分析仪;
- 以氧化铜为氧化剂的密封球形管。

7 样品前处理

同位素检测前必须将乙醇分离出来。具体方法可参照 3.1 中 RMN-FINS 方法中酒的蒸馏。

糖必须先发酵为乙醇,具体参照葡萄汁、精馏浓缩葡萄汁(葡萄浆果)RMN-FINS 方法进行。

8 步骤

所有的制备工作必须在无明显乙醇蒸发损耗情况下进行,否则样品中同位素的组分会改变。

下面所描述的是通常使用的商业性自动燃烧系统。所有其他方法,只有确保把乙醇定量变成二氧化碳前没有蒸发损耗,才可以进行其前处理。下面是使用元素分析仪的实验步骤:

- a) 将样品加入锡杯中
 - 准备好锡杯、镊子和干净托盘;
 - 用镊子取一个合适的锡杯;



——用微量移液器在锡杯中加入适当体积的液体。

注：3.84 mg 的纯乙醇或 4.17 g 乙醇含量为 92% (*m/m*) 的馏出物能够产生 2 mg 的碳。可根据质谱仪的敏感性，按照需要的碳量计算出馏出物的量。

——用镊子把锡杯密封，每个锡杯必须完全封闭，每个样品需要两个锡杯；

——把锡杯放入元素分析仪的样品盘上，锡杯须用数字标示以便区分；

——在实验的开始和结束时都要放入标准品；并有规律地在样品序列中添加质控样。

b) 检查和调整元素分析仪和同位素质谱仪

——调整元素分析仪的炉温，氮和氧气流速达到样品燃烧的理想状态；

——对包括元素分析仪和同位素质谱仪（例如用氮气检查离子流 $m/z = 28$ ）进行检漏；

——调整同位素质谱能够检测合适的离子流强度 (m/z 分别为 44, 45, 46)；

——在测定前使用标样检查系统。

c) 进行试验

将样品持续放入元素分析仪或色谱仪，每个样品燃烧后的二氧化碳气体进入质谱仪，用质谱测定离子流，使用电脑记录每个样品的离子流强度和计算 δ 值。

9 计算

本方法用于测定乙醇中同位素¹³C/¹²C的比值。这些乙醇来源于葡萄酒或葡萄产品的发酵产物。同位素¹³C/¹²C的比值可以表示为与标样比较得到的偏差 $\delta^{13}\text{C}$ 。¹³C($\delta^{13}\text{C}$)的同位素比值是通过千分之一的 δ 标度来计算的，将样品的实验结果与之前用国际标准参考物 (V-PDB) 校正的标准样品进行比较。 $\delta^{13}\text{C}$ 的值可以用样品与标准样品的比值表示：

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{ech/ref}}(\text{‰}) = 1000 \times (R_{\text{ech}} - R_{\text{ref}}) / R_{\text{ref}}$$

其中 R_{ech} 和 R_{ref} 分别是样品和标样的¹³C/¹²C的值

然后用 V-PDB 表示 $\delta^{13}\text{C}$ ：

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{ech/V-PDB}}(\text{‰}) = \delta^{13}\text{C}_{\text{ech/ref}} + \delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}} + (\delta^{13}\text{C}_{\text{ech/ref}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}}) / 1000$$

其中 $\delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}}$ 是之前标准样品与 V-PDB 同位素的偏差。

由于仪器的状况可能引起微小的误差，因此，样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 必须根据使用的标样测定值和真实值之间的差异来校正，其中真实值已通过之前标样与 V-PDB 的比较而得到。标准样品两次测定结果的偏差，对样品结果的校正可以认为是线性的。标样的测定必须安排在进样序列的开始和最后进行。对每个样品两个值（标样值的预测值和实际测量值的差异）的校正可由线性内插法来计算。

10 质量保证及控制

通过检查标样的¹³C值，使它与标准值之间的误差不超过 0.05‰，否则，必须对仪器进行检查和调整。

对每一个样品来说，两次平行实验结果之间的差异要小于 0.03‰，最终的结果是两次平行实验结果的平均值，如果两个结果之间差异大于 0.03‰，需重新进行实验。

对测定条件的监控是建立在 $m/z = 44$ 离子流强度和进入元素分析仪的二氧化碳量成比例的基础之上的。在标准状态下，进行样品分析时，离子流强度应该是稳定的。显著的偏差



可能是由于乙醇的蒸发(不完全封闭的金属杯),或是由于元素分析仪和质谱仪不稳定造成的。

11 测定方法的特性试验

对来源于葡萄酒、甘蔗或甜菜或三者的混合物含有乙醇样品的馏出物进行了比对实验研究(11.1)。这项研究没有考虑蒸馏步骤,但包括了比对实验室对葡萄酒的研究(11.2),以及同位素环形试验(11.3)的有关信息。结果显示了理想状况下,不同的蒸馏系统,特别是参照 RMN-FINS 中所述方法,在测定葡萄酒中乙醇 $\delta^{13}\text{C}$ 的量上没有显著性差异。

对葡萄酒样品的研究中所得到的精确参数与比对实验研究中对馏出物的结果一致(11.1)。

11.1 有关馏出物的比对实验研究结果

研究年份:1996

实验室数量:20

样品数量:6个样品双盲样比对

比较性分析:乙醇的 $\delta^{13}\text{C}$

表 1

样品编号	来源于葡萄酒的乙醇	来源于甜菜的乙醇	来源于甘蔗的乙醇
A 和 G	80%	10%	10%
B 和 C	90%	10%	0%
D 和 F	0%	100%	0%
E 和 I	90%	0%	10%
H 和 K	100%	0%	0%
J 和 L	0%	0%	100%

表 2

样品	A/G	B/C	D/F	E/I	H/K	J/L
去除异常结果后的实验室数量	19	18	17	19	19	19
可接受的实验结果数量	38	36	34	38	38	38
平均值($\delta^{13}\text{C}$)/‰	-25.32	-26.75	-27.79	-25.26	-26.63	-12.54
重复性方差 S_r^2	0.006 4	0.007 7	0.003 1	0.012 7	0.006 9	0.004 1
重复性标准偏差(S_r)/‰	0.08	0.09	0.06	0.11	0.08	0.06
重复性限值 $r(2.8 \times S_r)$ /‰	0.22	0.25	0.16	0.32	0.23	0.18
再现性方差 S_R^2	0.038 9	0.030 9	0.038 2	0.045 9	0.031 6	0.058 4
再现性标准偏差(S_R)/‰	0.20	0.18	0.20	0.21	0.18	0.24
再现性限值 $R(2.8 \times S_R)$ /‰	0.55	0.9	0.55	0.60	0.50	0.68

11.2 比对实验室对两个葡萄酒和一个乙醇样品的研究

研究年份:1996

实验室数量:14个测定葡萄酒馏出物样品,其中7个还测定了葡萄酒中乙醇的 $\delta^{13}\text{C}$;
8个测定乙醇样品的 $\delta^{13}\text{C}$

样品数量:3个(酒精度为9.3%的白葡萄酒,酒精度为9.6%的白葡萄酒,酒精质量分数93%的乙醇)

分析:乙醇的 $\delta^{13}\text{C}$

表 3

样品	红葡萄酒	白葡萄酒	乙醇
实验室数量	7	7	8
可接受的结果数量	7	7	8
平均值($\delta^{13}\text{C}$)/‰	-26.20	-26.20	-25.08
再现性方差 S_R^2	0.0525	0.0740	0.0962
再现性标准偏差(S_R)/‰	0.23	0.27	0.31
再现性限值 $R(2.8 \times S_R)$ /‰	0.64	0.76	0.87

参与的实验室使用了不同的蒸馏系统。但没有一个实验室出现对整个馏出物 $\delta^{13}\text{C}$ 值的测定结果离群或者与平均值有较大偏差的情况。实验结果的再现性方差($S_R^2=0.0059$)可以与来自比对实验室研究的重复性方差 S_r^2 比较。

11.3 同位素环形实验结果

从1994年12月开始国际上经常组织实验室用对葡萄酒和乙醇(酒精度96%)样品进行同位素测定的环形试验。实验结果可用于参与的实验室检测质量控制。能够对葡萄酒和乙醇馏出物 $\delta^{13}\text{C}$ 的结果总结如表4:

表 4

日期	葡萄酒				馏出物			
	N	S_R	S_R^2	R	N	S_R	S_R^2	R
1994.12	6	0.210	0.044	0.59	6	0.151	0.023	0.42
1995.6	8	0.133	0.018	0.37	8	0.147	0.021	0.41
1995.12	7	0.075	0.006	0.21	8	0.115	0.013	0.32
1996.3	9	0.249	0.062	0.70	11	0.278	0.077	0.78
1996.6	8	0.127	0.016	0.36	8	0.189	0.036	0.53
1996.9	10	0.147	0.022	0.41	11	0.224	0.050	0.63
1996.12	10	0.330	0.109	0.92	9	0.057	0.003	0.16
1997.3	10	0.069	0.005	0.19	8	0.059	0.003	0.16
1997.6	11	0.280	0.079	0.78	11	0.175	0.031	0.49

表 4(续)

日期	葡萄酒				馏出物			
	N	S_R	S_R^2	R	N	S_R	S_R^2	R
1997.9	12	0.237	0.056	0.66	11	0.203	0.041	0.57
1997.12	11	0.127	0.016	0.36	12	0.156	0.024	0.44
1998.3	12	0.285	0.081	0.80	13	0.245	0.060	0.69
1998.6	12	0.182	0.033	0.51	12	0.263	0.069	0.74
1998.9	11	0.264	0.070	0.74	12	0.327	0.107	0.91
平均		0.215	0.046	0.60		0.209	0.044	0.59

注： N 表示参加实验的实验室数量。

参 考 文 献

- [1] Detecting enrichment of musts, concentrated musts, grape and wine sugars by application of nuclear magnetic resonance of deuterium(RMN-FINS/SNIF-NMR).
OIVRecueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des mots.
- [2] E. C. Regulation. Community analytical methods which can be applied in the wine sector, N°. 2676/90. Detecting enrichment of grape musts, concentrated grape musts, rectified concentrated grape musts and wines by application of nuclear magnetic resonance of deuterium(SNIF-NMR).
- [3] Official Journal of the European Communities, NoL 272, Vol 33, 64-73, 3 October 1990.
- [4] Inter-laboratory study about the determination of $\delta^{13}C$ in wine ethanol OIV FV No 1051.
- [5] Fidelité de la détermination du rapport isotopique $^{13}C/^{12}C$ de l'éthanol du vin OIV FV No 1116.
- [6] Stable carbon isotope content in ethanol of EC data bank wines from Italy, France and Germany. ARossmann ; H-L Schmidt ; F. Reniero ; G. Versini ; I. Moussa ; M. — H. Merle. Z. Lebensm. Unters. Forsch. , 1996, 203, PP. 293-301.



气相色谱燃烧或高效液相色谱与同位素比质谱仪 联用法测定葡萄酒中甘油¹³C/¹²C的比例 (GC-C-IRMS 或 HPLC-IRMS)

(OIV-Oeno 343-2010)

1 范围

现有的气相色谱或液相色谱与同位素比质谱仪联用法(GC-C-IRMS 或 HPLC-IRMS),可以测定甘油中¹³C/¹²C的比例。如果同时需要对甘油的含量进行定量,可使用 GC-IRM 方法,以 1,5-戊二醇为内标,同时进行分析。

2 定义

¹³C/¹²C:样品中¹³C 和¹²C 的比值。

δ¹³C:¹³C 含量表示为千分之一(‰)。

GC-C-IRMS:气相色谱配燃烧接口与同位素比值质谱仪联用技术。

V-PDB:Vienna-Pee-Dee Belemnite. 或 PDB,是衡量¹³C 含量在自然中变化的主要方法。碳酸钙来源于美国北卡罗来纳州 Pee Dee 结构的白垩纪箭石属岩石。它的¹³C/¹²C 值或 R-PDB 为0.011 237 2。PDB 的含量经过长时间的消耗,但是它的¹³C 含量变化具有自然规律。维也纳(奥地利)的国际原子能机构用它的含量对标准物质进行刻度。用 V-PDB 表示¹³C 的自然含量,已经成为一个惯例。

3 原理

植物中的糖在进行光合作用时,根据不同 C₃ 机理(Calvin 循环)和 C₄ 机理(Hatch-Slack 循环),¹³C 同位素的含量会存在显著差异。绝大多数植物,例如葡萄和甜菜,属于 C₃ 植物类型。甘蔗和玉米属于 C₄ 植物类型。糖和发酵产物(乙醇、甘油)的¹³C 含量有相关性,通过检测甘油中¹³C 含量,可以检测出添加到葡萄酒或饮料中的来自玉米(C₄ 植物)或合成(矿物能源)的甘油。

气相或液相色谱可以分离葡萄酒基质中的甘油。在 GC-C-IRMS 中,在色谱分离流出物之后,经过燃烧和还原步骤,即穿过燃烧接口的氧化和还原炉。除甘油以外的溶剂在运行过程中被后冲阀抽出,以防止炉体污染和对色谱干扰。¹³C 含量是根据样品中甘油氧化所产生的二氧化碳气体来测定的。甘油氧化会产生二氧化碳和水,在燃烧过程中产生的水由 Nafion[®]膜组成的除水装置除去。被氦气洗脱的二氧化碳进入 IRMS 源进行¹³C/¹²C 的分析。

在使用 HPLC-IRMS 时,色谱分离样品后,接口处流动相内的样品被氧化。溶剂中形成的二氧化碳通过气体交换膜进入氦气从而被分离。氦气通过一个由 Nafion[®]膜组成的除水装置,然后通过一个分流口进入 IRMS 的离子源。

不同组成的¹⁸O,¹⁷O,¹⁶O 与¹³C 和¹²C 同位素,能形成质量为 44(¹²C ¹⁶O₂),45(¹³C ¹⁶O₂ 和 ¹²C ¹⁷O ¹⁶O)以及 46(¹²C ¹⁶O ¹⁸O)的化合物(由于¹³C ¹⁷O ¹⁶O 和¹²C ¹⁷O₂ 的丰度非常低,可以忽略



不计)。相应的离子流由三种不同的捕获器进行测定。离子流 $m/z=45$ 要根据 $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ 的含量来进行校正, $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ 的含量是在考虑 ^{18}O 和 ^{17}O (Craig 校正)相对丰度的基础上,根据 $m/z=46$ 离子流的强度计算得来的。通过标准值和国际标准 V-PDB 之间的比较可以计算出 ^{13}C 的含量($\delta^{13}\text{C}\%$ 相对比例)。

4 试剂

- 4.1 无水乙醇。
- 4.2 纯甘油(纯度 $\geq 99\%$)。
- 4.3 1,5-戊二醇。
- 4.4 1,5-戊二醇(4.3)乙醇溶液,用于稀释葡萄酒样品。此溶液浓度需精确,浓度一般为 0.5 g/L~1.0 g/L。
- 4.5 正磷酸。
- 4.6 过二硫酸钠,氧化剂。
- 4.7 氦气,载气。
- 4.8 氧气,燃烧反应器中的再生气体。
- 4.9 二氧化碳气体, ^{13}C 含量的二级标准气体。
- 4.10 根据国际标准物质计算的已知 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比例的甘油标准样品。
- 4.11 根据国际标准物质计算的已知 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比例的 1,5-戊二醇标准样品。

5 仪器和设备

5.1 同位素比质谱仪

同位素比质谱仪(IRMS)能检测出自然界中二氧化碳气体中 ^{13}C 的相对含量(或表示为相对值),内部精度可达 0.05‰。(内部精度指对同一二氧化碳气体样品进行 2 次测定的差值)。同位素比质谱仪通常配备可以同时测定 m/z 分别为 44、45、46 的三个捕获器。IRMS 配有运行分析,数据收集和结果分析软件来计算同位素比。

5.2 气相色谱仪

气相色谱仪(GC)通过一个燃烧接口与同位素比质谱仪相连接。

气相色谱仪需配置一根极性毛细管柱,从而能将甘油与其他葡萄酒成分分离(例如:填充键合聚乙二醇的 Chrompack WCOT 熔融硅毛细管柱,CP-Wax-57 CB,柱长 25 m,内径 0.25 mm,膜厚 0.20 μm)。

燃烧接口通常由氧化反应器(含有镍,铂和铜线的陶瓷管)和一个还原反应器(含有铜线的陶瓷管)组成。

5.3 液相色谱

液相色谱仪(LC)通过 LC Isolink 接口与同位素比质谱仪连接。

液相色谱仪需配置一根在不使用有机溶剂或添加剂的情况下可以从葡萄酒中分离甘油的色谱柱(例如:HyperREZ Carbohydrate H⁺,柱长 30 cm,直径 8 mm)。Isolink 接口由毛细管氧化反应器和交换膜(三层膜)组成。



5.4 常用设备

样品注射针或自动进样器;容量瓶,0.2 μm 滤膜,色谱进样瓶和 10 μL 进样针。

上述所列的实验室常用设备仅作参考,可以用其他类似仪器代替。

6 样品制备

6.1 GC-C-IRMS 测定甘油中¹³C/¹²C

将葡萄酒样品经 0.2 μm 滤膜过滤后用乙醇按 1:4 稀释。然后将样品转移到色谱进样瓶中,在 4℃ 下密封保存。

6.2 GC-C-IRMS 定量甘油中¹³C/¹²C 比

将葡萄酒样品经 0.2 μm 滤膜过滤后用 1,5-戊二醇乙醇溶液(4.4)按 1:4 稀释。然后将样品转移到色谱进样瓶中,在 4℃ 下密封保存。

6.3 HPLC-IRMS 测定甘油中¹³C/¹²C

葡萄酒样品经 0.2 μm 滤膜过滤后用水稀释。然后将样品转移到色谱进样瓶中,在 4℃ 下密封保存。

7 步骤

7.1 GC-C-IRMS

通常使用 GC-C-IRMS 系统测定甘油中¹³C/¹²C 同位素比例按下述步骤进行。

7.1.1 工作条件

可使用 5.2 中描述的色谱柱和燃烧接口,参数为:

a) 进样口温度 270℃。

b) 程序升温如下:起始柱温 120℃,保持 2 min;然后以 10℃/min 升温至 220℃,保持 2 min。不包括降温时间,每次运行时间为 14 min。

c) 载气:氦气。

d) 燃烧和还原反应器的温度分别为 960℃ 和 640℃。

e) 进样量:0.3 μL,使用高分流模式(分流速率:120 mL/min)。

每隔一段时间(例如:1 周)可用氧气再次氧化氧化反应器(此周期根据通过反应器物质的总量而定)。

7.1.2 甘油中¹³C/¹²C 比

在¹³C/¹²C 分析中,需使用两级二氧化碳标准气体。此二氧化碳气体应先由 V-PDB 国际标准校正,也可以由机构内部标准进行校正。

每个葡萄酒样品需进样 3 次。每批样品中需加入相应的质控样。

一批典型的样品进样序列如下:

- 质控样
- 质控样
- 样品 1
- 样品 1



- 样品 1
- 样品 2

每个样品测定 3 次。

- ……
- 样品 6
- 样品 6
- 样品 6
- 质控样
- 质控样

此质控样为在乙醇中已知准确 $\delta^{13}\text{C}$ 值的甘油溶液(例如元素分析仪-IRMS),并且可根据测定序列中的偏移来校正结果。

7.1.3 甘油中 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比例以及甘油的含量

如果在测定 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 同位素比的同时需测定甘油含量,可按照步骤(7.1.2)进行检测,样品的准备按 6.2 要求。1,5-戊二醇可作为内标用来测定甘油的浓度,其的 $\delta^{13}\text{C}$ 值可以用来评估进样的准确性,对同位素测定和燃烧反应进行质量控制。

葡萄酒中甘油的浓度是由内标法来测定的。用已知浓度的内标(1,5-戊二醇)和甘油配制成 0.50 g/L~10 g/L 5 个不同浓度的乙醇标准溶液,建立一条标准曲线。为确保响应值呈线性,每个含有内标物的溶液需连续测定 3 次。

7.2 HPLC-IRMS

自动 HPLC-IRMS 系统测定甘油中 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 同位素比例可按下述步骤进行。

注:分析步骤可根据不同制造商进行相应调整。体积、温度、流速和时间仅作参考,可根据制造商的说明进行优化。

7.2.1 工作条件

可使用 5.3 中描述的色谱柱和接口,参数为:

- a) 流动相流速为:400 $\mu\text{L}/\text{min}$;
- b) LC 接口酸和氧化剂的流速分别为 40 $\mu\text{L}/\text{min}$ 和 30 $\mu\text{L}/\text{min}$;
- c) 反应器接口温度和柱温分别为 99.9 $^{\circ}\text{C}$ 和 65 $^{\circ}\text{C}$;
- d) 分离装置的氦气流速为:1 $\mu\text{L}/\text{min}$;

溶剂瓶在色谱完成时需用氦气进行脱气。

7.2.2 甘油中 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比例

在 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 分析中,需使用两股二氧化碳标准气体。此二氧化碳气体应先从 V-PDB 国际标准校正。此二氧化碳标准气体也可以由机构内部标准进行校正。

每个葡萄酒样品需进样 3 次。每批样品中需加入相应的质控样。

一批典型的样品进样序列如下:

- 质控样。
- 质控样。
- 样品 1。
- 样品 1。
- 样品 1。



- 样品 2。
- 每个样品测定 3 次。

- ……。
- 样品 6。
- 样品 6。
- 样品 6。
- 质控样。
- 质控样。

此质控样为在乙醇中已知准确 $\delta^{13}\text{C}$ 值的甘油溶液 (例如元素分析仪-IRMS), 可根据测定序列中的偏移来校正结果。

8 计算

8.1 ¹³C/¹²C 比例

同位素¹³C/¹²C的比值可以表示为与标样比较得到的偏差 $\delta^{13}\text{C}$ 。

¹³C 的同位素偏差 ($\delta^{13}\text{C}$) 是通过千分之一的 δ 标度 ($\delta/1\ 000$ 或 $\delta\%$) 来计算的, 将样品的实验结果与之前用国际标准参考物 (V-PDB) 校正的标准样品进行比较。在¹³C/¹²C的分析过程中, 要使用按照 PDB 国际标准校正的标准二氧化碳气体。

$\delta^{13}\text{C}$ 的值与标准的相关性如下:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{sample/ref}}(\%) = (R_{\text{sample}}/R_{\text{ref}} - 1) \times 1\ 000$$

其中 R_{sample} 和 R_{ref} 分别是样品和二氧化碳标准气体 (4.9) 的¹³C/¹²C 的值。

$\delta^{13}\text{C}$ 与 V-PDB 的相关性如下:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{sample/V-PDB}}(\%) = \delta^{13}\text{C}_{\text{sample/ref}} + \delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}} + (\delta^{13}\text{C}_{\text{sample/ref}} \times \delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}}) / 1\ 000$$

其中 $\delta^{13}\text{C}_{\text{ref/V-PDB}}$ 是之前测定的标样与 V-PDB 的同位素偏差。

由于仪器的状况可能引起微小的误差, 因此, 样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 必须根据使用的标样测定值和真实值之间的差异来校正, 其中真实值已通过之前标样与 V-PDB 的比较而得到。标准样品两次测定结果的偏差, 对样品结果的校正可以认为是线性的。标样的测定必须安排在进样序列的开始和最后进行。每个样品结果的校正可由线性内插法来计算。

8.2 GC-C-IRMS 测定甘油含量

在绘制标准曲线时, 对于每一次进样, 甘油与内标物的相对响应因子 R 的计算方法见公式 (1), 绘制 R 与甘油中内标 (IS) 含量的线性曲线, 得到的线性图, 其相关系数需至少达到 0.99。

$$R = \frac{\text{甘油峰面积}}{\text{内标物峰面积}} \dots\dots\dots (1)$$

根据 7.1.1 中所述的分析条件, 由于 1,5-戊二醇的极性小于甘油, 所以它的保留时间约为 310 s, 而甘油的保留时间为 460 s (见附录 A 中的色谱图)。

依据公式 (2) 计算每次进样的甘油浓度:

$$C_{\text{glycSample}} = K \cdot G_{1.5\text{PDSample}} \cdot \frac{S_{\text{glycSample}}}{S_{1.5\text{PDSample}}} \times \text{稀释因子} \dots\dots\dots (2)$$

其中: C_{xSample} —— 样品浓度 (g/L);



$S_{X_{\text{sample}}}$ ——产生的峰面积；

K (响应系数)计算如下：

$$K = \frac{C_{\text{glyc}_{St}}}{C_{1,5PD_{St}}} \cdot \frac{S_{1,5PD_{St}}}{S_{\text{glyc}_{St}}} \dots\dots\dots (3)$$

下标 St 表示 5 个标准溶液(7.1.3)中 1,5-戊二醇和甘油的浓度及峰面积。

根据实际情况,本实验的稀释因子为 4。

样品的最终浓度(g/L)为样品三次进样的平均值。

9 质量保证及控制

9.1 GC-C-IRMS

对于每一个样品,3 次连续进样的标准偏差(SD)需小于 0.6‰。样品的最终结果为 3 次测定的平均值。如果偏差大于 0.6‰,需重复测定。

用离子流 $m/z=44$ 来校正测量的准确性,它与注入系统的碳含量成比例。在标准状态下,进行样品分析时,离子流强度应该是稳定的。显著的偏差可能是由于分离或甘油氧化不完全,以及质谱仪不稳定造成的。

9.2 HPLC-IRMS

检查标准物的¹³C 值,差值不得超过允许值的 0.5‰。否则,需检查质谱仪的设置,如有必要进行调整。

对于每一个样品,3 次进样的标准偏差(SD)需小于 0.6‰。样品的最终结果为 3 次测定的平均值。如果偏差大于 0.6‰,需重复测定。

用离子流 $m/z=44$ 来校正测量的准确性,它与注入系统的碳含量成比例。在标准状态下,进行样品分析时,离子流强度应该是稳定的。显著的的偏差可能是由于分离或甘油氧化不完全,以及质谱仪不稳定造成的。

10 方法的特性

10.1 GC-C-IRMS

10.1.1 精密度

通过对不同来源的由 RA-IRMS 测定 $\delta^{13}\text{C}$ 的甘油样品和四个合成葡萄酒溶液(水-乙醇-甘油)进行初步研究。3 次重复进样,可接受的的 GC-C-IRMS 技术的标准偏差 SD 需小于 0.6‰。当测定甜葡萄酒时,由于 1,5-戊二醇与样品中的成分或副产物重叠,精密度可能会有影响。

10.1.2 甘油浓度的测定

使用两种甘油溶液对此方法的可行性进行验证。假设干型葡萄酒中甘油的典型含量为 4 g/L~10 g/L,这两种甘油溶液的含量在此浓度范围之内。第一种溶液浓度为 4.0 g/L,测定值为 3.6 g/L($SD=0.2, N=8$)。第二种溶液浓度为 8.0 g/L,测定值为 7.9 g/L($SD=0.3, N=8$)。

通过参加 BIPEA 能力验证计划,使用 HPLC 法或酶法(其他方法)对五种葡萄酒样品(A~E)甘油含量进行测试,浓度单位为 g/L, $n>3, SD<0.6$ 。结果表明,由 GC-C-IRMS 测



定的甘油浓度与其他方法(如酶法或HPLC)给出的结论一致。

表1 比较五种浓度的葡萄酒中甘油浓度检测结果表

样品	A	B	C	D	E
品种	白葡萄酒	玫瑰葡萄酒	白葡萄酒	红葡萄酒	白葡萄酒
给出范围/(g/L)	6.2~8.4	4.8~6.6	5.7~7.7	6.3~8.5	4.6~6.2
平均值/(g/L)	7.3	5.4	6.7	7.4	5.4
GC-C-IRMS 给出值/(g/L)	6.4	5.4	6.7	7.8	5.4

BIPEA 测定是由 HPLC 或酶法来完成的。

10.2 HPLC-IRMS 法内部验证

用下述样品对 HPLC-IRMS 方法的可行性进行验证,样品包括:甘油标准溶液,三种合成葡萄酒(甘油浓度处于葡萄酒样品中甘油含量的典型范围内)以及葡萄酒。

甘油浓度测定的精密度可以通过在重复条件下每个样品重复测定 10 次或在 3d 内在可重复条件下对相同样品进行 10 次独立分析(表 2)。

表2 HPLC-IRMS 测定甘油¹³C 值的准确度和精密度

样品	每个样品的重复次数	HPLC-IRMS							
		第 1 天		第 2 天		第 3 天		精密度	
		平均值 $\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	SD/ ‰	平均值 $\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	SD/ ‰	平均值 $\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	SD/ ‰	r/ ‰	R/ ‰
甘油(标准品)	10	-27.99	0.05	-27.94	0.04	-27.95	0.08	0.17	0.18
合成葡萄酒(6g/L)	10	-28.06	0.13	-28.14	0.12	-28.14	0.11	0.34	0.35
合成葡萄酒(8g/L)	10	-28.11	0.12	-28.18	0.07	-28.21	0.07	0.25	0.28
合成葡萄酒(10g/L)	10	-28.06	0.06	-28.06	0.09	-28.05	0.09	0.23	0.24
葡萄酒	10	-28.88	0.10	-28.85	0.27	-28.72	0.23	0.60	0.62

注 1: $\delta^{13}\text{C}$ 表示为与 V-PDB 的比值(‰)。
 注 2:EA-IRMS 甘油(标准品): $-28.02 \text{‰} \pm 0.09 \text{‰}$ 。
 注 3:测定葡萄酒样品中甘油的 $\delta^{13}\text{C}$ 方法的性能参数:
 重复性限 r:0.60‰。
 再现性限 R:0.62‰。

附录 A

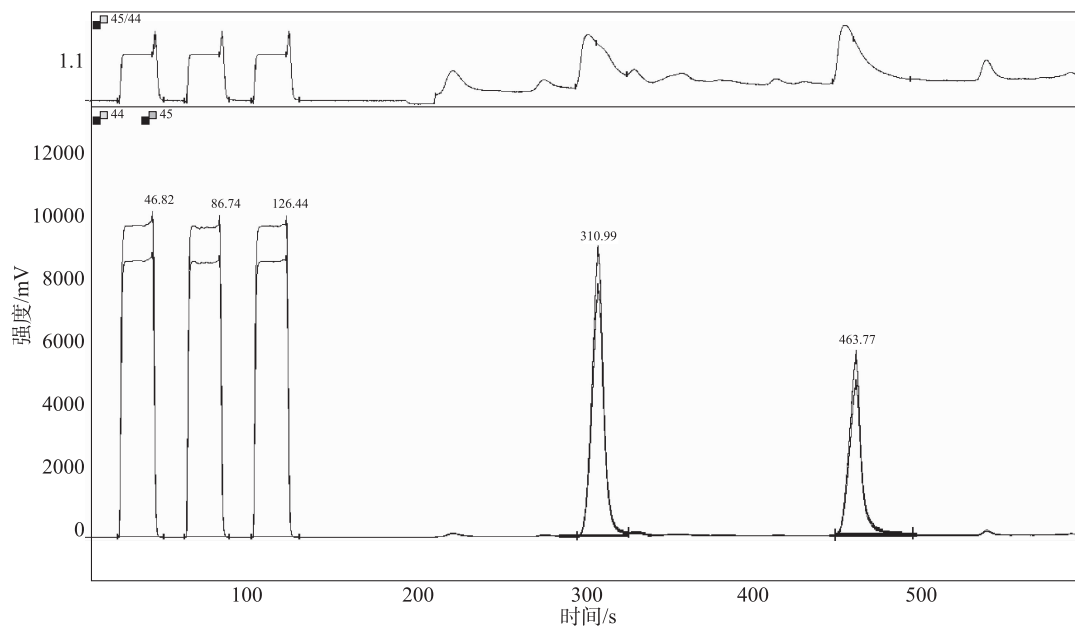


图 A.1 GC-C-IRMS 检测葡萄酒中甘油的色谱图

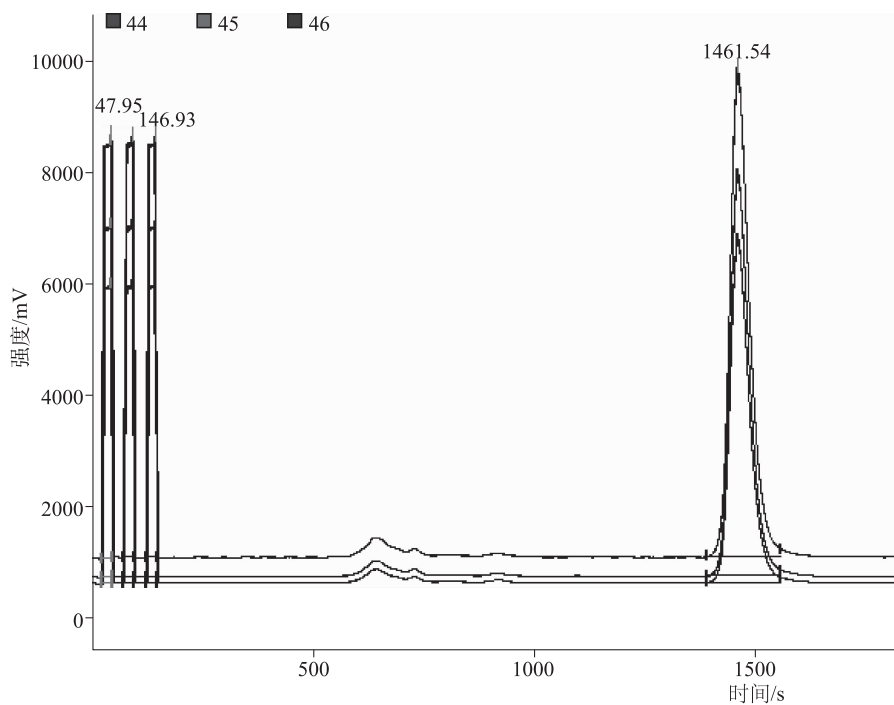


图 A.2 HPLC-IRMS 测定甘油的典型色谱图



参 考 文 献

- [1] Calderone G. , Naulet N. , Guillou C. , Reniero F. , “Characterization of European wine glycerol: stable carbon isotope approach”. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52, 5902-5906.
- [2] Cabanero AI, Recio JL, Ruperez M. Simultaneous stable carbon isotopic analysis of wine glycerol and ethanol by liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry.



3.1.3 酸类

方法 OIV-MA-AS313-01

方法类型 I

总 酸

1 定义

葡萄酒的总酸是指用标准碱性溶液将葡萄酒的 pH 滴定至 7 时,所中和的可滴定酸度的总和。二氧化碳不包括在总酸之内。

2 原理

用电位滴定法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来测定总酸。

3 仪器

- 3.1 真空水泵。
- 3.2 500 mL 抽滤瓶。
- 3.3 按 pH 单位校准的电位计和电极:玻璃电极应保存在蒸馏水中,饱和甘汞氯化钾电极应保存在饱和氯化钾溶液。
- 3.4 直径为 12 cm 的烧杯。

4 试剂

4.1 pH 为 7.0 的缓冲溶液:

磷酸二氢钾(KH_2PO_4)	107.3 g
1 mol/L 氢氧化钠溶液	500 mL
加水至	1 000 mL

也可使用市售的已配制好的 pH 为 7.0 缓冲溶液。

4.2 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液。

4.3 4 g/L 溴百里酚蓝指示剂溶液:

溴百里酚蓝	4 g
96%(V/V)中性乙醇	200 mL
待溶解后,再加入:	
不含 CO_2 的水	200 mL
1 mol/L 氢氧化钠溶液,充分至呈蓝绿色(pH7.0)	7.5 mL
加水至	1 000 mL

5 步骤

5.1 试样的制备(去除二氧化碳)

量取约 50 mL 葡萄酒置于抽滤瓶中,用水泵将抽滤瓶抽真空 1 min~2 min,并不断地搅动。

5.2 电位滴定法

5.2.1 pH 计的校准

按 pH 计的使用说明书校准,使用 20℃pH=7.0 的缓冲溶液在 20℃下校准 pH 计。

5.2.2 测定方法

在一个烧杯中,放置一定体积制备好的样品,相当于 10 mL 葡萄酒和 50 mL 蒸馏浓缩后的葡萄汁。然后再加入约 10 mL 蒸馏水,用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定,直至 20℃时 pH=7.0。滴加氢氧化钠标准溶液的速度要缓慢,同时应不断地搅拌,记下滴加的 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液的体积 n mL。

5.3 指示剂滴定法(溴百里酚蓝)

5.3.1 预备试验:终点颜色的判断

烧杯中,加入 25 mL 煮沸的蒸馏水,1 mL 溴百里酚蓝溶液和制备好的样品,该样品相当于 10 mL 葡萄酒和 50 mL 蒸馏浓缩后的葡萄汁。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 5 mL pH7.0 的缓冲溶液。

5.3.2 定量

在烧杯中加入 30 mL 煮沸的蒸馏水,1 mL 溴百里酚蓝溶液和制备好的样品,该样品相当于 10 mL 葡萄酒和 50 mL 蒸馏浓缩后的葡萄汁。滴加 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液,直到颜色变为蓝绿色,与 5.3.1 预备中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 n mL。

6 结果表示

6.1 计算方法

以毫摩尔表示总酸的浓度(mmol/L),结果保留一位小数:

$$A=10n$$

以酒石酸表示总酸的浓度(g/L),结果保留两位小数:

$$A'=0.075\times A$$

以硫酸表示总酸的浓度(g/L),结果保留两位小数:

$$A'=0.049\times A$$

6.2 指示剂滴定方法的重复性(r)

$$r=0.9 \text{ mmol/L}$$

$$r=0.04 \text{ g/L(以硫酸计)}$$

$$r=0.07 \text{ g/L(以酒石酸计)}$$

6.3 指示剂滴定方法的再现性(R)

白葡萄酒和桃红葡萄酒:



$R=3.6 \text{ mmol/L}$

$R=0.2 \text{ g/L}$ (以硫酸计)

$R=0.3 \text{ g/L}$ (以酒石酸计)

红葡萄酒:

$R=5.1 \text{ mmol/L}$

$R=0.3 \text{ g/L}$ (以硫酸计)

$R=0.4 \text{ g/L}$ (以酒石酸计)

参 考 文 献

[1] SEMICHON L., FLANZY M., Ann. Fals. Fraudes, 1930, 23, 5.

[2] FÈRE L., Ibid., 1931, 24, 75.

[3] JAULMES P., Bull. O. I. V., 1953, 26, NO 274, 42; Ann. Fals. Fraudes, 1995, 48, 157.

挥发酸

1 定义

葡萄酒的挥发酸主要来源于乙酸(醋酸)。它们在葡萄酒中以游离状态或盐形式存在。

2 原理

先将二氧化碳从葡萄酒中去除,用水蒸气将挥发酸从葡萄酒中蒸馏分离出来,然后用标准氢氧化钠溶液滴定。

游离态二氧化硫和结合态二氧化硫在上述条件下也可能被蒸馏出来,应当排除其影响。葡萄酒中有可能加入的山梨酸也必须去除。

注:某些国家在进行分析前为了稳定葡萄酒而加入了水杨酸,在蒸馏过程中有一部分会被蒸馏出来,应测定其数量,从挥发酸中去除。其定量方法见于本章附录。

3 仪器

3.1 水蒸气蒸馏装置,包括:

- 水蒸气发生器,所产生的水蒸气不得含有二氧化碳;
- 带蒸汽管的烧瓶;
- 蒸馏柱一根;
- 冷凝管一根。

上述装置应通过以下三个试验:

a) 在烧瓶中放置 20 mL 沸水进行蒸馏,采集 250 mL 馏出液,加入 0.1 mL 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液和 2 滴酚酞溶液,出现的粉红色至少应保持 10 s(表明水蒸气中不含二氧化碳)。

b) 在烧瓶中加入 20 mL 0.1 mol/L 乙酸溶液进行蒸馏,收集 250 mL 蒸馏液,用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液进行滴定。所消耗滴定液的体积至少为 19.9 mL(表明所蒸馏出的乙酸 $\geq 99.5\%$)。

c) 在烧瓶中加入 20 mL 1 mol/L 乳酸溶液进行蒸馏,收集 250 mL 馏出液,用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液进行滴定,所消耗的氢氧化钠标准溶液的体积小于等于 1.0 mL(表明蒸馏出的乳酸 $\leq 0.5\%$)。

3.2 喷水式真空泵。

3.3 抽滤瓶。

4 试剂

4.1 结晶酒石酸。

4.2 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液。

4.3 浓度为 1%(m/V)的酚酞,用 96%(V/V)中性乙醇配制。

4.4 盐酸($\rho_{20^\circ\text{C}} = 1.18 \text{ g/mL} \sim 1.19 \text{ g/mL}$)用蒸馏水稀释至 4 倍。



4.5 0.005 mol/L 碘标准溶液。

4.6 结晶碘化钾。

4.7 5 g/L 淀粉溶液。

将 5 g 淀粉溶解在约 500 mL 水中,加热至沸腾,并不断搅拌,保持沸腾 10 min。加入 200 g 氯化钠,冷却后,补加液体至 1 L。

4.8 饱和四硼酸钠(硼砂 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)溶液,在 20℃时浓度约为 55 g/L。

4.9 0.1 mol/L 乙酸溶液。

4.10 1 mol/L 乳酸溶液(其制备方法,见乳酸章节)。

5 步骤

5.1 样品制备

去除二氧化碳。取约 50 mL 葡萄酒置于抽滤瓶中,用水泵将抽滤瓶抽真空 1 min~2 min,并不断地摇动。

5.2 水蒸气蒸馏

量取 20 mL 如 5.1 所述的脱除二氧化碳的葡萄酒,放置于样品瓶中。加入约 0.5 g 酒石酸,收集至少 250 mL 蒸馏液。

5.3 滴定

加入 2 滴酚酞溶液作为指示剂,用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定。记录消耗氢氧化钠溶液的体积 n mL。

加入 4 滴稀释的盐酸溶液,2 mL 淀粉溶液和一些结晶碘化钾。用 0.005 mol/L 碘标准溶液滴定游离态二氧化硫。记录消耗的碘溶液体积 n' mL。

加入四硼酸钠饱和溶液,直至重新出现粉红色。用 0.005 mol/L 碘标准溶液滴定结合态二氧化硫。记录消耗的碘溶液体积 n'' mL。

6 结果表示

6.1 计算方法

挥发酸以 mmol/L 表示,结果保留一位小数:

$$5(n-0.1n'-0.05n'')$$

挥发酸以硫酸表示(g/L),结果保留两位小数:

$$0.245(n-0.1n'-0.05n'')$$

挥发酸以乙酸表示(g/L),结果保留两位小数:

$$0.300(n-0.1n'-0.05n'')$$

6.2 方法的重复性(r)

$$r=0.7 \text{ mmol/L}$$

$$r=0.03 \text{ g/L(以硫酸计)}$$

$$r=0.04 \text{ g/L(以乙酸计)}$$

6.3 方法的再现性(R)

$$R=1.3 \text{ mmol/L}$$

$R=0.06 \text{ g/L}$ (以硫酸计)

$R=0.08 \text{ g/L}$ (以酒石酸计)

6.4 加入山梨酸的葡萄酒

由于 96% 的山梨酸被蒸汽带入 250 mL 蒸馏液中, 它的酸度应从挥发酸中减除, 已知 100 mg 山梨酸相当于 0.89 mmol 酸度或 0.053 g 乙酸。可通过其他方法确定山梨酸的浓度 (mg/L)。



附录 A

测定馏出挥发酸中的水杨酸

A.1 原理

挥发性酸度测定后,经过二氧化硫的校正,如果酸化后,当添加铁(Ⅲ)盐显示紫色时,则表明有水杨酸存在。为测定挥发酸馏出液中水杨酸含量,需要取一份与做挥发酸定量时一样体积的试样,用比色法测定水杨酸的含量,然后从挥发酸中将其扣除。

A.2 试剂

- 盐酸($\rho_{20^\circ\text{C}} = 1.18 \text{ g/L} \sim 1.19 \text{ g/L}$)。
- 硫代硫酸钠标准滴定液, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.1 mol/L 。
- 铁(Ⅲ)硫酸铵溶液, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$, $10\% (m/V)$ 。
- 水杨酸钠溶液, 0.01 mol/L (1.60 g/L 的水杨酸钠, $\text{NaC}_7\text{H}_5\text{O}_3$)。

A.3 步骤

A.3.1 鉴定水杨酸

挥发酸测定后,经过游离态、结合态二氧化硫的校正后,将蒸馏物加入已含有 0.5 mL 盐酸, 3 mL 0.1 mol/L 硫代硫酸钠标准溶液和 1 mL 铁(Ⅲ)的硫酸铵溶液的锥形瓶中。如果溶液被染成紫色则表明水杨酸存在。

A.3.2 测定水杨酸

在上述锥形瓶中,对馏出物作出体积标记。将瓶中溶液倒出并冲洗锥形瓶。重新取 20 mL 测试酒样进行水蒸气蒸馏,将蒸馏物收集在锥形瓶中,直至液面达到参考标记处。然后加入 0.3 mL 浓盐酸和 1 mL 铁(Ⅲ)的硫酸铵溶液,锥形瓶中溶液变成紫色。

用同样的方法,将样品蒸馏物换成水蒸馏物,将水蒸馏物倒入相同规格标有参考标记的锥形瓶中,直至标记位。加 0.3 mL 浓盐酸和 1 mL 铁(Ⅲ)的硫酸铵。用 0.01 mol/L 水杨酸钠溶液滴定,直到得到与酒蒸馏液的变色反应相同强度的紫色。假设 $n'' \text{ mL}$ 是水杨酸滴定体积。

A.4 挥发酸结果的校正

在对挥发酸进行定量时,应从滴定馏出液挥发酸所用的 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 $n \text{ mL}$ 中减去体积 $0.1n'' \text{ mL}$ 。

参 考 文 献

- [1] Single method: JAULMES P. , Recherches sur l'acidité volatile des vins, Thèse Diplom. Pharm. 1991, Montpellier, Nîmes.
- [2] JAULMES P. , Ann. Fals. Frauds, 1950, 43, 110.
- [3] JAULMES P. , Analyse des vins, 1951, 396, Montpellier.
- [4] JAULMES P. , Bull. O. I. V. , 1953. , 26, no 274, 48.
- [5] JAULMES P. , MESTRES R. , MANDROU Mlle B. , Ann. Fals. Exp. Chim. , 1964, 57, 119.



固 定 酸

1 原理

固定酸是总酸与挥发酸之差。

2 结果表示

固定酸用以下表示方式：

——mmol/L；

——g/L(以硫酸计)；

——g/L(以酒石酸计)。

有机酸(高效液相色谱法)

利用高效液相色谱法(HPLC)可以将葡萄酒中的有机酸分离出来,还可以同时进行定量分析。

1 原理

葡萄酒中的有机酸可以用两种固定相来分离:辛基结合硅胶和离子交换树脂。可以用紫外分光光度计来测定有机酸。

对于苹果酸和酒石酸的定量测定,推荐使用辛基结合硅胶,对于柠檬酸和乳酸推荐用离子交换树脂进行分离。对于这些酸可以用外标法来定量分析。

2 仪器

2.1 带纤维素膜的过滤装置(孔径为 $0.45\ \mu\text{m}$)。

2.2 配备有辛基结合硅胶材料的滤芯(例如:Sep Pak-Waters Assoc.)。

2.3 高效液相色谱仪,配备 $10\ \mu\text{L}$ 的注射器;恒温装置;检测器,可以在 $210\ \text{nm}$ 处进行吸光度测定;记录仪,或者积分仪。

操作条件

2.3.1 分离柠檬酸、乳酸和醋酸:

——装有强力阳离子交换树脂的色谱柱(例如:HPX-87 HBIO-RAD,长 $300\ \text{mm}$,内径 $7.8\ \text{mm}$,颗粒直径 $9\ \mu\text{m}$);

——流动相: $0.0125\ \text{mol/L}$ 硫酸溶液;

——流速: $0.6\ \text{mL/min}$;

——温度: $60^\circ\text{C}\sim 65^\circ\text{C}$ (根据树脂的型号确定)。

2.3.2 分离富马酸、琥珀酸、莽草酸、乳酸、苹果酸和酒石酸:

——两根串联的色谱柱(长 $250\ \text{mm}$,内径 $4\ \text{mm}$),装有辛基结合硅胶,颗粒直径为 $5\ \mu\text{m}$;

——流动相: $70\ \text{g/L}$ 磷酸二氢钾溶液, $14\ \text{g/L}$ 硫酸铵溶液,通过添加磷酸将 pH 调至 2.1 ;

——流速: $0.8\ \text{mL/min}$;

——温度: 20°C 。

3 试剂

3.1 高效液相色谱用蒸馏水。

3.2 蒸馏甲醇。

3.3 酒石酸。

3.4 苹果酸。

3.5 乳酸钠。



- 3.6 莽草酸。
- 3.7 醋酸钠。
- 3.8 琥珀酸。
- 3.9 柠檬酸。
- 3.10 富马酸。
- 3.11 硫酸($\rho_{20^\circ\text{C}} = 1.84 \text{ g/mL}$)。
- 3.12 0.0125 mol/L 硫酸溶液。
- 3.13 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。
- 3.14 硫酸铵 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 。
- 3.15 85%磷酸($\rho_{20^\circ\text{C}} = 1.71 \text{ g/mL}$)。
- 3.16 标准溶液:酒石酸,5 g/L;苹果酸,5 g/L;乳酸钠,6.22 g/L;莽草酸,0.05 g/L;醋酸钠,6.83 g/L;琥珀酸,5 g/L;富马酸,0.01 g/L 和柠檬酸 5 g/L。

4 步骤

4.1 样品制备

先将滤膜用 10 mL 甲醇清洗,然后再用 10 mL 蒸馏水清洗。

将葡萄酒或葡萄汁样品去除二氧化碳,经纤维素膜(0.45 μm)过滤。注射器先用样品预洗。然后吸取 8 mL 经过滤的样品,使之通过滤膜,弃去始滤的 3 mL 滤液,收集后面 5 mL 滤液(避免在开始时使用干燥的滤膜)。

4.2 色谱仪分析

先向色谱仪中注入 10 μL 标准溶液,接着注入 10 μL 按 4.1 制备的样品。按此程序重复进样 3 次。

5 计算

5.1 定性分析

确定每一种洗脱液的保留时间。

标准溶液中的各种有机酸按下列顺序洗脱分离:

在方法 2.3.1 情况下,柠檬酸、酒石酸、苹果酸、丁二酸+莽草酸、乳酸、富马酸、醋酸。

在方法 2.3.2 情况下,酒石酸、苹果酸、莽草酸、乳酸、醋酸、柠檬酸、丁二酸和富马酸。

5.2 定量分析

测定每一个峰的面积,对于标准溶液和样品溶液都要取 3 次平均值,根据峰面积,计算得到样品中有机酸的浓度。

6 结果表示

浓度按以下方式表示:

——对于酒石酸、苹果酸、乳酸和丁二酸,以 g/L 表示,保留一位小数;

——对于柠檬酸、醋酸和富马酸,以 mg/L 表示。

参 考 文 献

- [1] TUSSEAU D. et BENOIT C. ,F. V. ,O. I. V. ,1986,nos 800 et 813;J. Chromatogr. ,1987,395,323-333.



酒石酸(重量法)

1 原理

利用重量法对酒石酸形成的(±)酒石酸钙沉淀进行定量分析,可以用容量分析法作为此测定方法的对比方法。沉淀的条件(pH、试验总体积、沉淀离子的浓度)都与(±)酒石酸钙有关,而D(-)酒石酸钙则留在溶液中。

如果葡萄酒中已加过偏酒石酸,它会使得(±)酒石酸钙的沉淀不完全,这种情况下,应先经过水解处理。

2 方法

2.1 重量法

2.1.1 试剂

——醋酸钙溶液(含钙 10 g/L):

碳酸钙, CaCO_3	25 g
冰醋酸, CH_3COOH ($\rho_{20^\circ\text{C}} = 1.05 \text{ g/mL}$)	40 mL
加水至	1 000 mL

——结晶(±)酒石酸钙: $\text{CaC}_4\text{O}_6\text{H}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 。

在一个 400 mL 烧杯中,加入 20 mL 5 g/L 的 L-(+)酒石酸溶液,20 mL 6.126 g/L D-(+)酒石酸铵溶液和 6 mL 的醋酸钙(含钙 10 g/L)溶液。

上述溶液混匀后静置沉淀 2 h。在 4 号滤坩上收集沉淀物,用大约 30 mL 蒸馏水冲洗沉淀 3 次。放置 70°C 的烘箱中干燥至恒量。用以上的试剂,可获得约 340 mg 结晶(±)酒石酸钙,保存在具塞烧瓶中。

——沉淀液(pH4.75):

D(-)酒石酸铵	150 mg
醋酸钙溶液(含钙 10 g/L)	8.8 mL
加水至	1 000 mL

将 D(-)酒石酸铵溶于 900 mL 水中,加 8.8 mL 醋酸钙溶液,再加水至 1 000 mL。因(±)酒石酸钙微溶于此溶液中,在每升溶液中加入 5 mg(±)酒石酸钙,搅拌 12 h,然后过滤。

注:这种沉淀液也可以通过 D(-)酒石酸制备。

D(-)酒石酸	122 mg
25%(V/V)的氨水($\rho_{20^\circ\text{C}} = 0.97 \text{ g/mL}$)	0.3 mL

加入氨水溶液溶解 D(-)酒石酸,加水使体积大约至 900 mL;加入 8.8 mL 醋酸钙溶液,混合好后,用醋酸调 pH 至 4.75,加水使体积至 1 L。因(±)酒石酸钙微溶于此溶液中,在每升溶液中加入 5 mg(±)酒石酸钙,搅拌 12 h,然后过滤。

2.1.2 步骤

不加偏酒石酸的葡萄酒:在 600 mL 圆底烧瓶中,加入 500 mL 沉淀液和 10 mL 葡萄酒,混合,用玻璃棒搅拌以促进沉淀,放置沉淀 12 h。

在已知重量的 4 号滤坩上,真空抽滤沉淀溶液。用滤液冲洗沉淀,直到过滤完毕。

放置于 70℃ 烘箱中干燥,直至质量恒定,称重。假设结晶(±)酒石酸钙的质量为 m 。

加有偏酒石酸的葡萄酒:如果已知葡萄酒中加有偏酒石酸,或是可能加有偏酒石酸,可使这种酸在下列条件下首先进行水解:

在一个 50 mL 锥形烧瓶中,加入 10 mL 葡萄酒和 0.4 mL 冰醋酸。在锥形烧瓶顶部装上回流冷凝装置。加热至沸腾回流 30 min。冷却后,将锥形烧瓶内的液体转移至 600 mL 烧杯中每次用 5 mL 水将烧瓶冲洗 2 次,再按上面所述操作方法继续进行。

所含偏酒石酸的量包括在最终酒石酸的结果中。

2.1.3 结果表示

一分子(±)酒石酸钙相当于葡萄酒中二分之一分子 L(+)酒石酸。

每升葡萄酒中酒石酸的含量,用 mmol 表示,384.5 ρ 。

每升葡萄酒中酒石酸的含量,用酒石酸的质量(g)表示,28.84 ρ 。结果保留一位小数。

每升葡萄酒中酒石酸的含量,用酒石酸钾的质量(g)表示,36.15 ρ 。结果保留一位小数。

2.2 容量分析法

2.2.1 试剂

盐酸($\rho_{20^\circ\text{C}} = 1.18 \text{ g/mL} \sim 1.19 \text{ g/mL}$)按照 1:5 比例用水稀释。

0.05 mol/L EDTA 溶液

EDTA(乙二胺四乙酸)	18.61 g
加水至	1 000 mL

40%(m/V)氢氧化钠溶液:

氢氧化钠(NaOH)	40 g
加水至	100 mL

1%(m/m)羧酸钙指示剂:

2-羟基-1-(2-羟基-4 磺基-1-萘)-3-萘醌	1 g
无水硫酸钠	100 g

2.2.2 步骤

称重后,将装有(±)酒石酸沉淀物的滤坩重新放到真空抽滤瓶上,用 10 mL 稀盐酸将沉淀物溶解。用 50 mL 蒸馏水冲洗滤坩。

加入 5 mL 40%氢氧化钠溶液和大约 30 mg 指示剂。用 0.05 mol/L EDTA 滴定。记录消耗 EDTA 溶液的体积数 n (mL)。

2.2.3 结果表示

每升葡萄酒中酒石酸的含量,用 mmol 表示,5 n ,结果保留一位小数。

每升葡萄酒中酒石酸的含量,用酒石酸的质量(g)表示,0.375 n ,结果保留一位小数。

每升葡萄酒中酒石酸的含量,用酒石酸钾的质量(g)表示,0.470 n ,结果保留一位小数。

参 考 文 献

- [1] KLING A. ,Bull. Soc. Chim. ,1910,7,567.
- [2] KLING A. ,FLORENTIN D. ,Ibid,1912,11,886.
- [3] SEMICHON L. ,FLANZY M. ,Ann. Fals. Fraudes,1933,26,404.
- [4] PEYNAUD E. ,Ibid,1936,29,260.
- [5] PATO M. ,Bull. O. I. V. ,1944,17,no,161,59,no,162,64.
- [6] POUX C. ,Ann. Fals. Fraudes,1949,42,439.
- [7] PEYNAUD E. ,Bull. Soc. Chim. Biol. ,1951,18,911;Ref. Z. Lebensmit. Forsch. ,1953,97,142.
- [8] JAULMES P. ,BRUN Mme S. ,VASSAL Mlle M. ,Trav. Soc,Pharm. ,Montpellier,1961,21,4651.
- [9] JAULMES P. ,BRUN Mme S. ,CABANIS J. C. ,Bull. O. I. V. ,1969,nos 462-463,932.

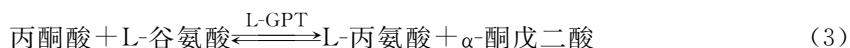
乳酸(酶法)

1 原理

在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)存在条件下,总乳酸(L-乳酸和 D-乳酸)在 L-乳酸脱氢酶(L-LDH)和 D-乳酸脱氢(D-LDH)所催化的反应中被氧化成丙酮酸。

通常,反应向有利于乳酸方向进行。从反应产物中除去丙酮酸可以使反应的平衡朝着生成丙酮酸的方向进行。

有 L-谷氨酸存在时,在谷丙转氨酶(GPT)催化反应中,丙酮酸转化成 L-丙氨酸。



形成的 NADH 量,通过测定在波长 340nm 处吸光度的增加而得到,NADH 量与乳酸的初始含量成正比。

注:通过反应(1)和反应(3)可以单独测定 L-乳酸,通过反应(2)和反应(3)可以单独测定 D-乳酸。

2 仪器

2.1 可以在波长 340 nm 处测量的分光光度计,该波长下 NADH 的吸光度最大。也可以使用可在 334 nm 或 365 nm 波长下进行测量的不连续光谱的光度计。

2.2 光程为 1 cm 的玻璃比色皿或专用比色皿。

2.3 可吸取范围为 0.02 mL~2 mL 的微量移液管。

3 试剂

3.1 pH 为 10 的缓冲溶液(0.6 mol/L 甘氨酸-甘氨酸;0.1 mol/L L-谷氨酸)。

将 4.75 g 甘氨酸-甘氨酸和 0.88 g L-谷氨酸溶于约 50 mL 双蒸水中;用少量 10 mol/L 氢氧化钠溶液将 pH 调至 10,再加双蒸水使液体总量至 60 mL。

在 4℃ 条件下,此溶液可保存至少 12 周。

3.2 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)溶液,浓度约为 40×10^{-3} mol/L。

将 900 mg NAD 溶于 30 mL 双蒸水中。此溶液在 4℃ 条件下可保存至少 4 周。

3.3 谷丙转氨酶(GPT)悬浮液,20 g/L。

此悬浮液在 4℃ 条件下,可保存至少 1 年。

3.4 L-乳酸脱氢酶(L-LDH)悬浮液,5 mg/L。

此悬浮液在 4℃ 条件下,可保存至少 1 年。

3.5 D-乳酸脱氢酶(D-LDH)悬浮液,5 mg/L。

此悬浮液在 4℃ 条件下,可保存至少 1 年。

建议在进行定量测定之前,先对酶的活性进行验证。



4 样品制备

乳酸定量通常可对未预先脱色的葡萄酒直接进行,如果乳酸浓度低于 100 mg/L,则不需要进行稀释。如果乳酸浓度高于 100 mg/L,则按以下方式进行稀释:

- 0.1 g/L~1 g/L,用双蒸水按 1:10 进行稀释;
- 1 g/L~2.5 g/L,用双蒸水按 1:25 进行稀释;
- 2.5 g/L~5 g/L,用双蒸水按 1:50 进行稀释。

5 步骤

进行测定前应注意:

避免手指与盛反应介质的玻璃器皿相接触,因为这可能带入 L-乳酸,从而使结果产生误差。

在进行定量测定前,应使缓冲溶液的温度在 20℃~25℃。

5.1 总乳酸定量

将分光光度计的波长调至 340 nm,使用光程为 1 cm 的比色皿。用空气或水作为参比调零。

向光程为 1 cm 的比色皿中加入:

	对照皿	样品皿
	mL	mL
溶液 3.1	1.00	1.00
溶液 3.2	0.20	0.20
双蒸水	1.00	0.80
悬浮液 3.3	0.02	0.02
样品	—	0.20

用玻璃棒或者塑料棒进行混匀;经过 5 min 后,测量对照溶液和测试样品溶液的吸光度 (A_1)。

分别加入 0.02 mL 溶液 3.4 和 0.05 mL 溶液 3.5,使其充分混匀,等待反应完全后(大约 30 min),测量对照溶液和测试样品溶液的吸光度 (A_2)。

算出对照溶液和测试溶液各自的吸光度之差 ($A_2 - A_1$), ΔA_R 和 ΔA_S 。

最后,用测试吸光度差值减去对照吸光度差值:

$$A = \Delta A_S - \Delta A_R$$

5.2 L-乳酸和 D-乳酸的定量测定

L-乳酸和 D-乳酸的定量测定可以根照总乳酸的操作方法分别求出,在求出 A_1 之后分别进行:

加入 0.02 mL L-LDH 悬浮溶液(3.4),使其混合均匀,待反应完全后(约 20 min),测量对照溶液和测试溶液的吸光度 (A_2)。

加入 0.05 mL L-LDH 悬浮溶液(3.5),使其混合均匀,待反应完全后(约 30 min),测量对照溶液和测试溶液的吸光度(A_3)。

测定对照和测试两种情况的 L-乳酸的吸光度之差($A_2 - A_1$)和 D-乳酸的吸光度之差($A_3 - A_2$)。

最后,用测试吸光度差值减去对照吸光度差值:

$$A = \Delta A_S - \Delta A_R$$

注:酶作用所需的时间彼此间可能有很大差别。所以上述算法只能是一般指导性的。建议按每一批进行测定。如果只需作 L-乳酸定量,在加入 L-乳酸脱氢酶之后的反应时间可减少至 10 min。

6 结果表示

乳酸浓度以 g/L 表示,结果保留 1 位小数。

6.1 计算方法

浓度可由下列公式计算(g/L):

$$c = \frac{V \times M}{\epsilon \times \delta \times v \times 1000} \times \Delta A$$

其中: V ——实验溶液的总体积(L-乳酸, $V=2.24$ mL;D-乳酸和总乳酸, $V=2.29$ mL);

v ——样品体积(0.2 mL);

M ——待定量物质的相对分子质量(DL-乳酸, $M=90.08$);

δ ——比色皿的光程(1 cm);

ϵ ——NADH 在波长 340 nm 处的吸收系数($\epsilon=6.3$ mmol⁻¹ · L · cm⁻¹)。

6.1.1 总乳酸和 D-乳酸

$$C = 0.164 \times \Delta A$$

如果在制备试样时进行了稀释,则应将结果乘以稀释倍数。

注:

• 在波长 334 nm 处测量: $c=0.167 \times \Delta A$, ($\epsilon=6.2$ mmol⁻¹ · L · cm⁻¹)。

• 在波长 365 nm 处测量: $c=0.303 \times \Delta A$, ($\epsilon=3.4$ mmol⁻¹ · L · cm⁻¹)。

6.1.2 L-乳酸

$$c = 0.160 \times \Delta A$$

如果在制备试样时进行了稀释,则应将结果乘以稀释倍数。

注:

• 在波长 334 nm 处测量: $c=0.163 \times \Delta A$, ($\epsilon=6.2$ mmol⁻¹ · L · cm⁻¹)。

• 在波长 365 nm 处测量: $c=0.297 \times \Delta A$, ($\epsilon=3.4$ mmol⁻¹ · L · cm⁻¹)。

6.2 重复性(r)

$$r = 0.02 + 0.07x_i$$

x_i 是样品中乳酸的浓度, g/L。

6.3 再现性(R)

$$R = 0.05 + 0.125x_i$$

x_i 是样品中乳酸的浓度, g/L。

参 考 文 献

- [1] HOHORST H. J. , in Méthodes d'analyse enzymatique, par BERGMEYER H. U. , 2e éd. , p. 1425, VerlagChemie Weinheim/Bergstraße, 1970.
- [2] GAWEHN K. et BERGMEYER H. U. , ibid. , p. 1450.
- [3] BOEHRINGER, Mannheim, Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire, documentation technique.
- [4] JUNGE Ch. , F. V. , O. I. V. , 1974, no 479.
- [5] VAN DEN DRIESSCHE S. et THYS L. , F. V. , O. I. V. , 1982, no 755.

柠檬酸(化学法)

1 原理

利用一种阴离子交换树脂先将柠檬酸与葡萄酒中的其他酸一起固定,再将柠檬酸洗脱分离出来。

柠檬酸先被氧化转变成丙酮,然后通过蒸馏分离出来,所携带的乙醛(乙醇)被氧化成乙酸,用碘量法测定丙酮含量。

2 仪器

2.1 阴离子交换柱

在一个带旋塞的 25 mL 滴定管内,先放进一团玻璃棉,再注入 20 mL Dowex 1×2 树脂。

开始时,先用 1 mol/L 的盐酸和氢氧化钠溶液交替对树脂进行两个完整周期的再生处理,再用 50 mL 蒸馏水冲洗*,用 250 mL 4 mol/L 醋酸溶液通过交换柱,使树脂饱和;再用 100 mL 蒸馏水洗涤。使待分析样品通过交换树脂柱。柠檬酸被洗脱后,用 50 mL 蒸馏水漂洗离子交换柱,再用 4 mol/L 醋酸溶液使树脂饱和,用 100 mL 水漂洗后下次可重复使用。

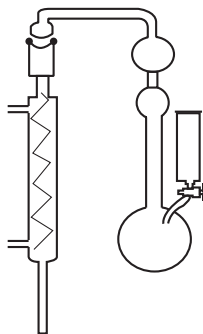


图 1 测定柠檬酸含量用的氧化和蒸馏装置

2.2 氧化装置

使用配有一个氧化圆底烧瓶的蒸馏装置,如图 1 所示,可以控制高锰酸钾溶液的加入量。

如果不具备上述条件的装置,可以用一个 500 mL 圆底烧瓶,上方装一个带旋塞的端部缩小的漏斗,使高锰酸钾的添加量得到控制。

* 通入氢氧化钠溶液时,树脂发生收缩再进行水洗时,树脂产生膨胀,会阻止液体流动。建议在最初几毫升水通过离子交换柱时,尽快对树脂进行搅拌,防止它吸附在滴定管的底部。



3 试剂

- 3.1 Dowex 1×2 树脂(50 目~100 目)。
- 3.2 4 mol/L 醋酸溶液。
- 3.3 2.5 mol/L 醋酸溶液。
- 3.4 2 mol/L 氢氧化钠溶液。
- 3.5 硫酸($\rho_{20^\circ\text{C}}=1.84\text{ g/mL}$)稀释至 1/5(V/V)。
- 3.6 pH 为 3.2~3.4 的缓冲溶液:
- | | |
|---|----------|
| 磷酸二氢钾(KH_2PO_4) | 150 g |
| 浓磷酸($\rho_{20^\circ\text{C}}=1.70\text{ g/mL}$) | 5 mL |
| 加水至 | 1 000 mL |
- 3.7 50 g/L 硫酸锰溶液($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)。
- 3.8 沸石。
- 3.9 0.01 mol/L 高锰酸钾溶液。
- 3.10 硫酸($\rho_{20^\circ\text{C}}=1.84\text{ g/mL}$)稀释至 1/3(V/V)。
- 3.11 硫酸($\rho_{20^\circ\text{C}}=1.84\text{ g/mL}$)稀释至 1/5(V/V)。
- 3.12 0.4 mol/L 高锰酸钾溶液。
- 3.13 40% (m/V) 硫酸亚铁溶液, ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)。
- 3.14 5 mol/L 氢氧化钠溶液。
- 3.15 0.01 mol/L 碘溶液。
- 3.16 0.02 mol/L 硫代硫酸钠溶液。
- 3.17 淀粉溶液。

4 分析方法

4.1 柠檬酸和柠草酸的分离

用 25 mL 葡萄酒通过 Dowex 1×2 阴离子交换树脂(以醋酸的饱和状态)柱,流量为 1.5 mL/min。用 20 mL 蒸馏水冲洗离子交换柱 3 次。用 200 mL 2.5 mol/L 醋酸溶液洗脱分离有机酸,流速保持不变。这一洗脱液中可能含有丁二酸、乳酸、半乳糖醛酸、柠檬苹果酸以及全部苹果酸。

柠檬酸和酒石酸的洗脱方法是:用 100 mL 2 mol/L 氢氧化钠溶液通过离子交换柱,将洗脱液收集在氧化装置的烧瓶中。

4.2 氧化

在盛有上述第二次洗脱液的烧瓶中,加入硫酸稀释液(3.11)约 20 mL,使 pH 在 3.2~3.8。然后加入 25 mL pH 3.2~3.4 的缓冲溶液,1 mL 硫酸锰和数粒沸石。

将试液加热至煮沸,弃去开始蒸出的 50 mL 蒸馏液。

往带旋塞的漏斗中加入 0.01 mol/L 高锰酸钾溶液,以每秒 1 滴的流速加到沸腾的洗出液中。馏出液收集在一个 500 mL 带磨口塞的烧瓶中,在此之前烧瓶中已放进几毫升水。进行氧化,直至液体呈现棕色,表明高锰酸钾已经过量。

4.3 丙酮的分离

如馏出液的体积低于 90 mL,则加蒸馏水补至 90 mL;加入 4.5 mL 硫酸稀释液(3.10)和 5 mL 0.4 mol/L 高锰酸钾溶液。如果收集的馏出液超出 90 mL 很多,则补加蒸馏水至 180 mL,将所用各种试剂的量都加为两倍。

在此条件下(介质为 0.25 mol/L 硫酸和 0.02 mol/L 高锰酸钾),乙醛(乙醇)被氧化成乙酸,而丙酮不起反应。

塞上烧瓶的瓶塞,在室温下静置 45 min。加入硫酸亚铁溶液,除去过量的高锰酸钾。

进行蒸馏,在一个带磨口塞的烧瓶中,先加入 5 mL 5 mol/L 氢氧化钠溶液,然后将约 50 mL 馏出液收集在此烧瓶中。

4.4 丙酮定量

往上述烧瓶中加入 25 mL 0.01 mol/L 碘溶液*,保持 20 min。加 8 mL 硫酸稀释液(3.11),在淀粉存在下,用 0.02 mol/L 硫代硫酸钠滴定至碘过量,消耗的硫代硫酸钠为 n mL。

在相同条件下作空白定量试验,用 50 mL 蒸馏水代替 50 mL 馏出液,消耗的硫代硫酸钠为 n' mL。

5 计算

1 mL 0.01 mol/L 碘溶液相当于 0.64 mg 柠檬酸。

柠檬酸含量由下式算出:

$$X = (n' - n) \times 25.6$$

6 结果表示

柠檬酸的浓度由 mg/L 表示。

参考文献

- [1] KOGEN A. ,Z. Anal. chem. ,1930,80,112.
- [2] BARTELS W. ,Z. Unters. Lebensm. 1933,65,1.
- [3] PEYNAUD E. ,Bull. O. I. V. ,1938,11, no 118,33.
- [4] GODET C. ,CHARRIERE R. ,Trav. Chim. Alim. Hyg. ,1948,37,317.
- [5] KOURAKOU Mme S. ,Ann. Fals. Exp. Chim. ,1962,55,149.

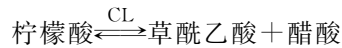
* 此剂量适用于柠檬酸浓度不超过 0.5 g/L~0.6 g/L 的情况。如柠檬酸浓度高于此范围,则碘溶液量不够,溶液不出现黄色。在此情况下,将碘溶液量应增至 2~3 倍,直至溶液呈现明显黄色。在特殊情况下,当葡萄酒中的柠檬酸含量超过 1.5 g/L 时,最好取 10 mL 葡萄酒重新进行分析。



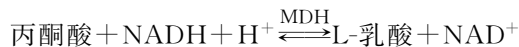
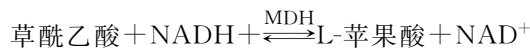
柠檬酸(酶法)

1 原理

在柠檬酸裂解酶(CL)催化的反应中,柠檬酸转化成草酰乙酸和醋酸:



在苹果酸脱氢酶(MDH)和乳酸脱氢酶(LDH)存在时,草酰乙酸及其脱羧衍生物——丙酮酸被还原,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)还原成 L-苹果酸和 L-乳酸:



在这两个反应中,NADH 氧化成 NAD^+ 的数量与所存在柠檬酸的数量成正比。NADH 的氧化程度根据它在波长 340 nm 处的吸光度的减小来测定。

2 仪器

- 2.1 分光光度计,可以在波长 340 nm 处测量的分光光度计,该波长下 NADH 的吸光度最大。也可以使用可在 334 nm 或 365 nm 波长下进行测量的不连续光谱的光度计。
- 2.2 光程为 1 cm 的玻璃比色皿或专用比色皿。
- 2.3 可吸取范围为 0.02 mL~2 mL 的微量移液管。

3 试剂

- 3.1 pH 为 7.8 的缓冲溶液(0.51 mol/L 甘氨酸-甘氨酸,pH7.8, $[\text{Zn}^{2+}]0.6 \times 10^{-3}$ mol/L)
将 7.13 g 甘氨酸-甘氨酸溶于约 70 mL 双蒸水中。用约 13 mL 5 mol/L 氢氧化钠溶液将 pH 调至 7.8,再加入 10 mL 氯化锌(ZnCl_2)溶液(80 mg 氯化锌溶于 100 mL 双蒸水中),用双蒸水定容至 100 mL。
- 3.2 还原态烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)溶液(浓度约为 6×10^{-3} mol/L)
将 30 mg NADH 和 60 mg NaHCO_3 溶于 6 mL 双蒸水中。
- 3.3 苹果酸脱氢酶/乳酸脱氢酶(MDH/LDH)溶液(MDH0.5 mg/mL;LDH2.5 mg/mL)
将 0.1 mL MDH(5 mg/mL)、0.4 mL 3.2 mol/L 硫酸铵溶液、0.5 mL LDH(5 mg/mL)进行混合。此悬浮液在 4℃ 条件下,可保存至少一年。
- 3.4 柠檬酸裂解酶溶液(CL,蛋白质 5 mg/mL)
将 168 mg CL 冻干品溶于 1 mL 水中。在 4℃ 时此溶液可保存至少 1 周,在冷冻情况下可保存至少 4 周。
建议在进行定量测定之前,先对酶的活性进行验证。
- 3.5 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)。

4 样品制备

如果待测葡萄酒中柠檬酸含量低于 400 mg/L,则可直接对未预先脱色和未经稀释的葡

萄酒进行测定。如果待测葡萄酒中柠檬酸含量高于 400 mg/L,则应先将葡萄酒稀释,使柠檬酸含量在 20 mg/L~400 mg/L 之间(每个样品所含的柠檬酸量在 5 μg 与 80 μg 之间)。

对富含酚类化合物的红葡萄酒,建议预先用 PVPP 处理:首先使用 PVPP 形成约 0.2 g 水悬浮液,放置 15 min 后过滤。

将 10 mL 葡萄酒置于 50 mL 锥形瓶中,加入湿的 PVPP 用刮勺从过滤纸上刮取。摇动 2 min~3 min 后,过滤。

5 步骤

将分光光度计的波长调至 340 nm,使用光程为 1 cm 的比色皿,用空气调零(参比)。向光程为 1 cm 的比色皿中加入以下试液:

	对照皿	样品皿
	mL	mL
溶液 3.1	1.00	1.00
溶液 3.2	0.10	0.10
试样	—	0.20
双蒸水	2.00	1.80
悬浮液 3.3	0.02	0.02

混匀,约 5 min 后,分别读取吸光度 A_1 。

分别加入 0.02 mL 溶液(3.4),混匀,等待反应进行完毕(大约 5 min 后),分别读取吸光度 A_2 。

计算两次吸光度之差 $A_2 - A_1$,对照皿吸光度之差和样品皿吸光度之差分别为 ΔA_S 和 ΔA_R 。

最后,用样品皿吸光度差值减去对照吸光度差值:

$$A = \Delta A_S - \Delta A_R$$

注:各种酶反应所需的时间彼此间可能有很大差别,上述数据仅供参考。建议每一批酶作一次测定。

6 结果表示

柠檬酸浓度以 mg/L 表示,结果保留至整数。

6.1 计算方法

浓度可由下列通式计算(mg/L):

$$c = \frac{V \times M}{\epsilon \times d \times v} \times \Delta A$$

其中: V ——实验溶液的总体积,mL(3.14 mL);

v ——试样体积,mL(0.2 mL);

M ——待测定物质的相对分子质量(无水柠檬酸, $M=90.08$);

d ——比色皿的光程,cm(1 cm);



ϵ ——NADH 的吸收系数(在波长 340 nm 处, $\epsilon=6.3 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)。

计算得到柠檬酸的含量:

$$c=479 \times \Delta A$$

如果在制备样品时进行了稀释,则应将结果乘以稀释倍数。

注:

- 在波长 334 nm 处测量

$$c=448 \times \Delta A, (\epsilon=6.3 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1})。$$

- 在波长 365 nm 处测量

$$c=887 \times \Delta A, (\epsilon=3.4 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1})。$$

6.2 重复性(r)

柠檬酸浓度低于 400 mg/L: $r=14 \text{ mg/L}$;

柠檬酸浓度高于 400 mg/L: $r=28 \text{ mg/L}$ 。

6.3 再现性(R)

柠檬酸浓度低于 400 mg/L: $R=39 \text{ mg/L}$;

柠檬酸浓度高于 400 mg/L: $R=65 \text{ mg/L}$ 。

参 考 文 献

- [1] Mayer K. et Pause G. ,Lebensm. Wiss. u. Technol. ,1969. 2,143
- [2] Junge Ch. ,F. V. ,O. I. V. ,1970,no 364
- [3] Boehringer, Mannheim, Méthodes d'analyse enzymatique en chimie alimentaire, documentation technique.
- [4] Van den Dreische S. et Thys L. ,F. V. ,O. I. V. ,1982,no 755

总苹果酸

1 原理

苹果酸通过阴离子交换树脂柱进行分离,利用比色法对浓硫酸存在下洗脱液和变色酸形成的黄色物质进行测定。通过利用苹果酸在 96% 的硫酸和变色酸反应得到吸光度减去 86% 的硫酸存在下和变色酸反应(苹果酸在此条件下不变色的反应)得到吸光度的差值来消除干扰物的影响。

2 仪器

- 2.1 玻璃柱,长约 250 mm,内径 35 mm,装有旋塞。
- 2.2 玻璃柱,长约 300 mm,内径 10 mm~11 mm,装有旋塞。
- 2.3 100℃ 恒温水浴锅。
- 2.4 可以在波长 420 nm 处,用光程 1 cm 的比色皿测定吸光度的分光光度计。

3 试剂

- 3.1 强碱性阴离子交换树脂(Merck III)。
- 3.2 5% (m/V) 氢氧化钠溶液。
- 3.3 30% (m/V) 醋酸溶液。
- 3.4 0.5% (m/V) 醋酸溶液。
- 3.5 10% (m/V) 硫酸钠溶液。
- 3.6 95%~97% (质量分数) 浓硫酸。
- 3.7 86% (质量分数) 硫酸溶液。
- 3.8 5% (m/V) 变色酸溶液。

将 500 mg 变色酸二钠($C_{10}H_6NaO_8S_2 \cdot 2H_2O$),溶于 10 mL 蒸馏水中。现用现配。

- 3.9 0.5 g/L DL-苹果酸溶液

将 250 mg 苹果酸($C_4H_6O_5$)溶于 10% 硫酸钠溶液中,使液体总体积达到 500 mL。

4 步骤

4.1 离子交换剂的制备

在 35 mm×250 mm 玻璃柱旋塞的上方,放置一团浸透蒸馏水的玻璃棉。将呈悬浮状的离子交换树脂注入离子交换柱,使得其表面上方有约 50 mm 高的空间。用 1 000 mL 蒸馏水淋洗,再用 5% 氢氧化钠溶液注入玻璃柱内淋洗,放走液体直至离子交换树脂表面仅剩 2 mm~3 mm 液层为止,再重复用 5% 氢氧化钠溶液冲洗两遍,放置 1 h。然后用 1 000 mL 蒸馏水淋洗离子交换树脂,并用 30% 醋酸溶液注满交换柱,放走部分液体,直至离子交换剂表面仅剩 2 mm~3 mm 液层,再重复用 30% 醋酸溶液冲洗两遍。在使用之前,放置至少 24 h。将离



子交换树脂保存在 30%醋酸溶液中,供以后使用。

4.2 离子交换柱的制备

在 11 mm×300 mm 玻璃柱旋塞的上方放置一团玻璃棉。将 4.1 制备的离子交换树脂注入离子交换柱内,使液层高度达 10 cm。将旋塞开启,放掉一部分 30%醋酸溶液,直至离子交换树脂表面剩 2 mm~3 mm 液层为止。用 50 mL 0.5%醋酸溶液淋洗离子交换柱。

4.3 DL-苹果酸的分离

将 10 mL 葡萄酒或葡萄汁注入按 4.2 制备的离子交换柱上。让葡萄酒一滴一滴地排走(平均流速每秒 1 滴)直至离子交换树脂表面上方剩约 2 mm~3 mm 液层为止。先用 50 mL 0.5%醋酸溶液冲洗离子交换柱,再用 50 mL 蒸馏水冲洗,以原来的速度放走液体直至离子交换树脂表面上方剩约 2 mm~3 mm 液层。

用 10%硫酸钠溶液洗脱吸附在离子交换柱上的酸,用之前相同的流速冲洗(每秒 1 滴)。将洗脱液收集在一个 100 mL 容量瓶中。离子交换树脂可按方法 4.1 所述进行再生。

4.4 苹果酸定量

取两支 30 mL 带磨口塞的广口试管 A 和 B。向每支试管加入 1.0 mL 洗出液和 1.0 mL 5%变色酸溶液。向试管 A 中加入 10.0 mL 86%硫酸溶液(对照用),向试管 B 中加入 10.0 mL 96%(m/m)硫酸溶液(测定用)。将试管塞紧,小心混合均匀,注意不要弄湿磨口部分。将试管浸入一个预先加热至沸腾的水浴中,水浴 10 min。将两支试管在避光处冷却至 20℃,冷却之后 90 min,在波长 420 nm 处,光程为 1 cm 的比色皿中,以对照样试管 A 为参比调零点,测定试管 B 的吸光度。

4.5 标准曲线

吸取 5 mL、10 mL、15 mL、20 mL 0.5 g/L DL-苹果酸溶液分别注入 50 mL 容量瓶中。用 10%硫酸钠溶液定容至 50 mL。对应于每升含 0.5 g、1.0 g、1.5 g、2.0 g DL-苹果酸的葡萄酒洗脱所得到的洗脱液。按 4.4 所述步骤继续进行测定。标准溶液所测的吸光度与苹果酸含量的关系是一条通过原点的直线。

色度的深浅与硫酸的浓度关系密切。需要随时对标准曲线进行验证,以确定浓硫酸的浓度是否有变化。

5 结果表示

根据洗脱液所测得的吸光度查校准曲线,得到 DL-苹果酸的含量(g/L)。含量保留一位小数。

参考文献

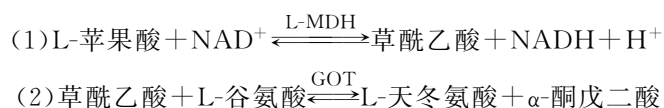
- [1] REINHARD C., KOEDING, G., Zur Bestimmung der Apfelsäure in Fruchtsäften, Flüssiges Obst., 1989, 45, S. 373 ff.

L-苹果酸(酶法)

1 原理

在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)存在时,L-苹果酸在 L-苹果酸脱氢酶(L-MDH)的存在下被氧化成草酰乙酸。调节反应平衡方向更有利于苹果酸的生成。

减少产物中的草酰乙酸可使平衡反应朝生成草酰乙酸的方向进行。在 L-谷氨酸存在情况下,草酰乙酸被谷草转氨酶(GOT)催化反应转变成成为 L-天冬氨酸。



通过在波长 340 nm 处测定生成 NADH 的吸光度,其含量与 L-苹果酸的数量成正比。

2 仪器

2.1 分光光度计,可以在波长 340 nm 处测量的分光光度计,该波长下 NADH 的吸光度最大。也可以使用可在 334 nm 或 365 nm 波长下进行测量的不连续光谱光度计。

由于使用到吸光度的绝对测量值(即不使用校准曲线,但考虑 NADH 的消光系数),该装置的波长和吸光度必须事先进行校准。

2.2 光程为 1 cm 的玻璃比色皿或专用比色皿。

2.3 可吸取范围为 0.02 mL~2 mL 的微量移液管。

3 试剂

3.1 pH 为 10 的缓冲溶液(0.6 mol/L 甘氨酸-甘氨酸;0.1 mol/L L-谷氨酸)

将 4.75 g 甘氨酸-甘氨酸和 0.88 g L-谷氨酸溶于约 50 mL 双蒸水中,用 4 mL~6 mL 10 mol/L 氢氧化钠溶液将 pH 调至 10,再加双蒸水使液体总量至 60 mL。在 4℃ 条件下,此溶液可保存至少 12 周。

3.2 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)溶液,浓度约为 47×10^{-3} mol/L;将 420 mg NAD 溶于 12 mL 双蒸水中。

3.3 谷草转氨酶(GOT)悬浮液,2g /L。

此悬浮液在 4℃ 条件下,可保存至少 1 年。

3.4 L-苹果酸脱氢酶(L-MDH)溶液,5 mg/mL。

此悬浮液在 4℃ 条件下,可保存至少 1 年。

4 样品制备

如果 L-苹果酸含量低于 350 mg/L(测量为 365 mg/L),则可直接对未预先脱色和未经稀释的葡萄酒进行测定。如果 L-苹果酸含量高于 350 mg/L,则应先将葡萄酒进行加倍稀释,直至 L-苹果酸含量在 30 mg/L~350 mg/L 之间(即,每个试样的 L-苹果酸含量在 3 μg~50 μg



之间)。

如果葡萄酒中苹果酸含量低于 30 mg/L,则试样取样量可增加至 1 mL。在此情况下,加水量减少,以使两个比色杯中的容积相同。

5 步骤

将分光光度计的波长调至 340 nm,使用光程为 1 cm 的比色皿,用空气调零(参比)。向光程为 1 cm 的比色皿中加入以下试液:

	对照皿	样品皿
	mL	mL
溶液 3.1	1.00	1.00
溶液 3.2	0.20	0.20
双蒸水	1.00	0.90
悬浮液 3.3	0.01	0.10
试样	—	0.10

混匀,经过约 3 min 后,分别读取对照溶液和测试样品溶液的吸光度 A_1 。

分别加入 0.01 mL 溶液(3.4),使其充分混匀,等待反应进行完毕(大约 5 min~10 min)后,分别读取吸光度 A_2 。

分别计算两次吸光度之差 $A_2 - A_1$,对照皿吸光度之差和样品皿吸光度之差分别为 ΔA_R 和 ΔA_S 。

最后,用测试吸光度差值减去对照吸光度差值:

$$A = \Delta A_S - \Delta A_R$$

注:各种酶反应所需的时间彼此间可能有很大差别。上述数据仅供参考。建议每一批酶作一次测定。

6 结果表示

L-苹果酸的浓度以 g/L 表示,结果保留一位小数。

6.1 计算方法

浓度可由下列通式计算(g/L):

$$c = \frac{V \times PM}{\epsilon \times \delta \times 1\,000} \times \Delta A$$

其中: V ——试验溶液的总体积(2.22 mL);

v ——样品体积(0.1 mL);

M ——待测定物质的相对分子质量(L-苹果酸, $M=134.09$);

δ ——比色皿的光程(1 cm);

ϵ ——NADH 的吸收系数(在波长 340 nm 处, $\epsilon=6.3 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)。

因此,得到 L-苹果酸含量:

$$c = 0.473 \times \Delta A \text{ g/L}$$

如果在制备试样时进行了稀释,则应将结果乘以稀释倍数。

注:

- 在波长 334 nm 处测量:

$$c=0.482 \times \Delta A, (\epsilon=6.2 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}).$$

- 在波长 365 nm 处测量:

$$c=0.876 \times \Delta A, (\epsilon=6.2 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}).$$

6.2 重复性(r)

$$r=0.03+0.034x_i$$

其中, x_i 为试样中 L-苹果酸的浓度(g/L)。

6.3 再现性(R)

$$R=0.05+0.071x_i$$

其中, x_i 是试样中 L-苹果酸的浓度(g/L)。

参 考 文 献

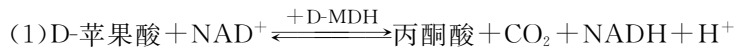
- [1] BERGMEYER H. U. ,Méthodes d'analyse enzymatique,2^e éd. ,Verlag-Chemie Weinheim/Bergstrasse,1970.
- [2] BOERHINGER,Mannheim,Méthodes d'analyse enzymatique en chimi alimentaire,documentation technique.
- [3] VAN DEN DRIESSCHE S. et THYS L. ,F. C. O. I. V. ,1982,n° 755.



D-苹果酸(酶法)

1 原理

在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)存在下,D-苹果酸在 D-苹果酸脱氢酶(D-MDH)所催化的反应中被氧化成草酰乙酸盐。草酰乙酸盐转化成丙酮酸和二氧化碳。



通过在波长 334 nm、340 nm 或 365 nm 处测定生成的 NADH 的吸光度,其含量与 D-苹果酸的含量成正比。

2 试剂

2.1 市售可以进行 30 次测定的试剂盒,包括:

——小瓶 1 中装有大约 30 mL Hepes 酸缓冲溶液[N-(2-羟乙基)哌啶-N'-2-磺化乙烷],pH=9.0,稳定剂。

——小瓶 2 中装有大约 210 mg NAD 冻干产品。

——小瓶 3(共 3 个)中装有 D-MDH 冻干品,滴定度大约为 8 个单位。

2.2 溶液的配制:

——瓶 1 中的溶液不经过稀释就可以使用,使用前升温至 20℃~25℃。

——将瓶 2 中的物质溶于 4 mL 双蒸水中。

——将其中一个瓶 3 中的物质溶解于 0.6 mL 双蒸水中,使用前升温至 20℃~25℃。

瓶 1 中的试剂在 4℃ 至少保存 1 年;溶液 2 在 4℃ 保存大约 3 周,并在 -20℃ 保存 2 个月;溶液 3 在 4℃ 保存 5d。

3 仪器

3.1 分光光度计,可以在波长 340 nm 处测量的分光光度计,该波长下 NADH 的吸光度最大。也可以使用可在 334 nm 或 365 nm 波长下进行测量的不连续的分光光度计。由于使用到吸光度的绝对测量值(即,不使用校准曲线,只考虑 NADH 的消光系数),该装置的波长和吸光度必须事先进行校准。

3.2 光程为 1 cm 的玻璃比色皿或专用比色皿。

3.3 可吸取容量范围为 0.01 mL~2 mL 的微量移液管。

4 样品制备

通常可以直接对未预先脱色的葡萄酒进行 D-苹果酸的测定。

葡萄酒中 D-苹果酸的量应该是在 2 μg~50 μg 之间,最好对葡萄酒进行稀释以使苹果酸的浓度在 0.02 g/L~0.5 g/L 之间,或者在 0.02 g/L~0.3 g/L 之间,根据所使用的仪器而确定。

样品稀释表,见表 1。

表 1 样品稀释表

每升 D-苹果酸的估计量		用水稀释	稀释系数 F
测量范围波长			
340 nm 或 334 nm	365 nm		
<0.3 g	<0.5 g	—	1
0.3 g~3.0 g	0.5 g~5.0 g	1+9	10

5 步骤

将分光光度计的波长调至 340 nm,使用光程为 1 cm 的比色皿测定吸光度,用空气调零(参比)。

向光程为 1 cm 的比色皿中加入以下试液:

	对照皿	样品皿
	mL	mL
溶液 1	1.00	1.00
溶液 2	0.10	0.10
双蒸水	1.80	1.70
试样	—	0.10

混匀,经过约 6 min 后,分别测定对照溶液和测试样品溶液的吸光度(A_1)。

加入

	对照皿	样品皿
	mL	mL
溶液 3	0.05	0.05

混匀,大约 20 min 等待反应完毕,分别测定对照溶液和样品溶液的吸光度 A_2 。

分别计算两次吸光度之差 $A_2 - A_1$,对照皿吸光度之差和样品皿吸光度之差分别为 ΔA_T 和 ΔA_D 。

最后,用测试吸光度差值减去对照吸光度差值:

$$A = \Delta A_D - \Delta A_T$$

注:每批酶作用所需的时间都不同。上述数据仅供参考。建议每一批酶作一次测定。

D-苹果酸反应非常快,酶的其他活动也会转化 L-酒石酸,但生成的速度要慢得多,因此会出现轻微的拮抗反应,这种反应可以通过推断来进行校正的(见附录 A)。

6 结果表示

浓度可由下式计算(mg/L):



$$c = \frac{V \times PM}{\epsilon \times d \times v} \times \Delta A$$

其中: V ——试验溶液的总体积(2.95 mL);

v ——样品体积(0.1 mL);

PM ——待测定物质的相对分子质量(D-苹果酸, $M=134.09$);

d ——比色皿的光程(1 cm);

ϵ ——NADH 的吸收系数

在波长 340 nm 处, $\epsilon=6.3 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

在波长 365 nm 处, $\epsilon=3.4 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

在波长 334 nm 处, $\epsilon=6.18 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

如果在制备试样时进行了稀释,则应将结果乘以稀释系数。

7 精密度

该方法在不同的试验中的精密度,见附录 B。

7.1 重复性

实验中使用同一物质、同一仪器、在最短的时间间隔中得出的两个结果之差的绝对值,将不超出重复性值 r ($r=11 \text{ mg/L}$) 的 5%。

7.2 再现性

两个试验室用同一种物质做试验获得的两个数据的差的绝对值,将不超过再现性值 R ($R=20 \text{ mg/L}$) 的 5%。

8 备注

考虑到方法的精确性,如果 D-苹果酸的数值小于 50 mg/L,则需要采用另外一个的分析方法来确认。例如 PRZYBORSKI(1993)等中的方法。若 D-苹果酸的含量小于 100 mg/L,不能被解释为葡萄酒中添加了 D,L-苹果酸。

小容器酒的实验用量不能超过 0.1 mL,以避免多酚对酶的活动的抑制作用。

参考文献

[1] PRZYBORSKI et al. Mitteilungen Klosterneuburg 43,1993;215-218.

附录 A

怎样处理拮抗反应

拮抗反应通常是由酶的次级作用引起的,由于在样品中出现了其他酶,或者由于样品中一种或几种元素与酶反应的共同因素相互作用。

在正常的反应中,吸光度在一定时间内会达到一个常量,通常是 10 min~20 min,依每种酶反应的速度不同而不同。但是,如果出现副反应,吸光度则不会达到一个常量,而是随着时间的变化而逐步增加,这种过程通常被称为“副反应”。

当出现这种情况时,最好是在到达反应需要的时间有规律的每间隔一段时间(2 min~5 min)测一次吸光度,以便使标准溶液达到其最终吸光度。当吸光度有规律地增加后,进行 5~6 次测量,然后画一张推论图(如图 1),或通过计算来获得当到达加完酶的时间(T_0)时,溶液的吸光度,并据此推断出的吸光度的差($A_f - A_i$),从而计算底物的浓度。

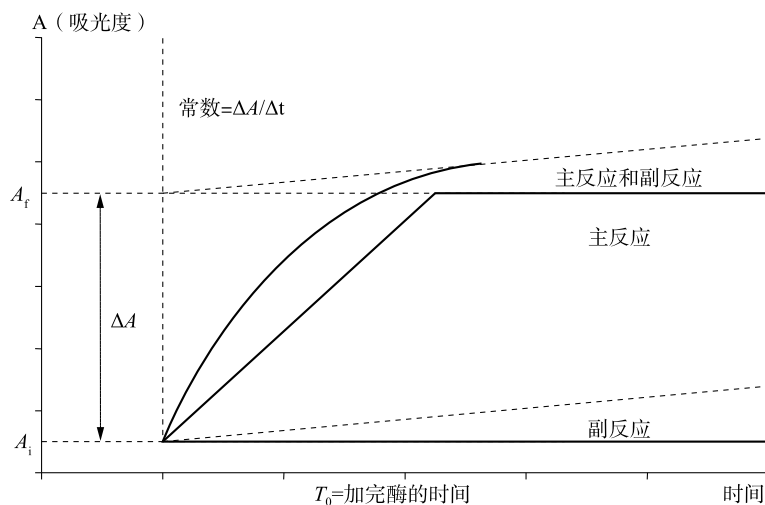


图 A.1 拮抗反应

附录 B 实验室之间试验统计结果

实验室试验年份:1995

实验室数目:8

样品数目:5 添加了 D-苹果酸

表 B.1

样品	A	B	C	D	E
剔除了异常结果的试验室后剩余的试验室数目	7	8	7	8	7
得出反常结果的试验室的数目	1	—	1	—	1
可被接受的结果数目	35	41	35	41	36
平均值(\bar{z})/(mg/L)	161.7	65.9	33.1	106.9	111.0
重复性的标准偏差(s_r)/(mg/L)	4.53	4.24	1.93	4.36	4.47
相对重复性的标准偏差比(RSD _r)/%	2.8	6.4	5.8	4.1	4.00
重复性的限值(r)/(mg/L)	12.7	11.9	5.4	12.2	12.5
再现性标准偏差(S_R)/(mg/L)	9.26	7.24	5.89	6.36	6.08
相对再现性标准偏差比(RSO _R)/%	5.7	11	17.8	5.9	5.5
相对再现性的限值(R)/(mg/L)	25.9	20.3	16.5	17.8	17.0
注:A表示红葡萄酒;B表示红葡萄酒;C表示白葡萄酒;D表示白葡萄酒;E表示红葡萄酒。					

D-苹果酸(酶法)(低含量)

(决议 Oeno 16/2002)

1 适用范围

本方法适用于通过酶法往葡萄酒中添加 D-苹果酸量小于 50 mg/L 的测定。

2 原理

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)氧化为草酰乙酸盐,草酰乙酸盐转化为丙酮酸和二氧化碳。通过在波长为 340 nm 处测定生成的 NADH 的吸光度,其含量与 D-苹果酸的含量成正比。

3 试剂

0.199 g/L D-苹果酸溶液。其余试剂与 OIV-MA-AS313-12A 中相同。

4 仪器

仪器与 OIV-MA-AS313-12A 中相同。

5 试样的制备

样品的制备与 OIV-MA-AS313-12A 中相同。

6 步骤

操作方法与 OIV-MA-AS313-12A 中相同,但是比色皿中所述的 D-苹果酸的含量相当于 50 mg/L。(加入 0.025 mL 0.199 g/L D-苹果酸溶液,代替等体积的蒸馏水),获得的值减少了 50 mg/L。

7 内部验证

表 1 添加量为 50 mg/L 的 D(+)-苹果酸的检测内部验证结果汇总表

工作水平	0 mg/L~70 mg/L D(+)-苹果酸 在这个范围内,呈线性关系,相关系数在 0.990~0.994 之间
设定限度	24.4 mg/L
检测限度	8.3 mg/L
灵敏度	0.001 5 吸光度值/(mg/L)
适用范围值/%	白葡萄酒:87.5%~115.0%;红葡萄酒 75%~105%



表 1(续)

工作水平	0 mg/L~70 mg/L D(+)-苹果酸 在这个范围内,呈线性关系,相关系数在 0.990~0.994 之间
重复性	白葡萄酒: $r=12.4$ mg/L (根据 OIV 方法 $r=12.5$ mg/L) 红葡萄酒: $r=12.6$ mg/L (根据 OIV 方法 $r=12.7$ mg/L)
标准偏差/%	4.2%~7.6%(白葡萄酒和红葡萄酒)
实验室内变异性	CV=7.4%($s=4.4$ mg/L; $\bar{X}=59.3$ mg/L)

参 考 文 献

- [1] Chretien D. ,Sudraud P. ,1993. Présence naturelle d'acide D(+)-malique dans les moûts et les vins, Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin,27:147-149.
- [2] Chretien D. ,Sudraud P. ,1994. Présence naturelle d'acide D(+)-malique dans les moûts et les vins, Feuille Vert de l'OIV,966.
- [3] Delfini C. ,Gaetano G. ,Gaia P. ,Piangerelli M. G. ,Cocito C. ,1995. Production of D(+)-malic acid by wine yeasts,Rivista de Viticoltura e di Enologia,48:75-76.
- [4] OIV,1998. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts. Mise à jour Septembre 1998. OIV, Paris.
- [5] Przyborski H. ,Wacha C. ,Bandion F. ,1993. Zur bestimmung von D(+)-Apfelsäure in wein, Mitteilung Klosterneuburg,43:215-218.
- [6] Machado M. and Curvelo-Garcia A. S. ,1999;FV. O. I. V. N° 1082, Ref. 2616/220199.

L-抗坏血酸(荧光光度法)

(决议 Oeno 377/2009 号)

1 原理

抗坏血酸通过活性炭氧化转变成脱氧抗坏血酸,这种化合物与正次苯基二胺(OPDA)反应形成一种荧光化合物,在硼酸存在的情况下,对照产生可测定的假荧光(通过形成一种复杂的脱氢抗坏血酸—硼酸复合物)。样品和对照可以通过荧光分析,依此计算脱氢抗坏血酸的浓度。

本方法用于测定葡萄酒和葡萄汁中抗坏血酸和脱氢抗坏血酸的含量。

2 方法

2.1 仪器

2.1.1 荧光光度计

带有连续光谱灯的荧光光度计。

根据所使用仪器不同,试验用的最理想激发和发射波长要通过试验预先确定,一般激发波长接近 350 nm,发射波长接近 430 nm,光程为 1 cm 的比色皿。

2.1.2 G3 玻璃滤器。

2.1.3 试管(直径大约为 10 mm)。

2.1.4 玻璃棒。

2.2 试剂

2.2.1 0.02% (m/V) 正次苯基二胺二盐酸盐($C_6H_{10}C_{12}N_2$)溶液,使用前准备。

2.2.2 500 g/L 三水合醋酸钠溶液。

2.2.3 硼酸和醋酸钠混合溶液:在 500 g/L 100 mL 醋酸钠溶液中溶解 3 g 硼酸(H_3BO_3)。现用现配。

2.2.4 56% 醋酸(CH_3COOH)溶液:冰醋酸($\rho_{20^\circ C} = 1.05$ g/mL),稀释至 56% (V/V),pH 约为 1.2。

2.2.5 1 g/L L-抗坏血酸标准溶液。

使用前,在避光处用干燥器对 50 mg L-抗坏血酸进行脱水处理,使用时溶解在 50 mL 醋酸溶液中(2.2.4)。

2.2.6 高纯度分析用活性炭:在 2 L 锥形瓶中放入 100 g 活性炭,加 500 mL 10% (V/V) 盐酸溶液($\rho_{20^\circ C} = 1.19$ g/mL)。加热至煮沸,在 G3 烧结玻璃过滤器上过滤,将滤渣转入至 2 L 锥形瓶中。加入 1 L 水,摇匀,过滤。重复操作 2 次。将残渣置于 $115^\circ C \pm 5^\circ C$ 干燥箱中,放置 12 h(或者过夜)。

2.3 步骤

2.3.1 样品制备

在 100 mL 容量瓶中加入一定体积的葡萄酒或葡萄汁,用 56% 的醋酸溶液稀释至刻度,



得到抗坏血酸浓度在 0~60 mg/L 的溶液,摇匀。加入 2 g 活性炭使其反应 15 min,间断性地摇动。用普通滤纸过滤,弃去初始的数毫升滤液。

在两个 100 mL 容量瓶中各加入 5 mL 滤液。在第一个瓶中加入 5 mL 硼酸和醋酸钠混合溶液(样品空白),在第二个瓶中加入 5 mL 醋酸钠溶液(2.2.2)(样品),间断性地摇动,保持 15 min。用蒸馏水定容至 100 mL。分别从每个容量瓶中吸取 2 mL 溶液,加入至试管中,加入 5 mL 正次苯基二胺溶液,用玻璃棒搅拌,使其在暗处反应 30 min,然后用荧光光度计测定。

2.3.2 标准曲线的制作

在三个 100 mL 的容量瓶中,分别加入 2 mL、4 mL、6 mL 抗坏血酸标准溶液,用醋酸溶液定容至刻度,摇匀。每 100 mL 标准溶液中分别含有 2 mg/mL、4 mg/mL、6 mg/mL-抗坏血酸。

在每个容量瓶中加入 2 g 活性炭,摇匀,反应 15 min。用普通滤纸过滤,弃去最初的数毫升滤液。在三个 100 mL 容量瓶中分别加入 5 mL 滤液用于空白试验,另取三个容量瓶加入滤液用于测试,在用于空白试验的每个容量瓶中加入 5 mL 硼酸和醋酸钠混合溶液,在测试用的每个容量中加入 5 mL 醋酸钠溶液,摇匀,反应 15 min。加蒸馏水定容至 100 mL。从每个容量瓶中吸取 2 mL 溶液,加入 5 mL 正次苯基二胺溶液,摇动,使其在黑暗中反应 30 min,再用荧光光度计测定。

2.3.3 荧光光度法测定

对每个标准溶液和样品溶液,用相关对照溶液调零。测定每个标准溶液和样品溶液的荧光。绘制标准曲线,标准曲线呈线性并通过原点。用测定值在标准曲线上查得分析溶液中抗坏血酸和脱氢抗坏血酸的浓度 c 。

2.4 结果表示

葡萄酒中 L-抗坏血酸和脱氢抗坏血酸的浓度用 mg/L 表示:

$$X=c \times F$$

其中 F 为稀释倍数。

参 考 文 献

[1] AFNOR standard, 76-107, ARNOR, Tour Europe, Paris.

[2] PROM T., F. V., O. I. V., 1984, n° 788.

山梨酸(荧光光度法)

1 原理

将葡萄酒通过水蒸气蒸馏得到山梨酸(2,4-己烯二酸)后,使用紫外分光光度计对山梨酸进行测定,可以通过向蒸馏液中添加弱碱性氢氧化钙溶液并将其蒸发至干的方法去除干扰性物质。

含量低于 20 mg/L 的样品可以使用薄层色谱进行测定(灵敏度:1 mg/L)。

2 使用紫外分光光度法测定

2.1 仪器

2.1.1 水蒸气蒸馏装置(见挥发酸章节)。

2.1.2 100℃水浴锅。

2.1.3 分光光度计具备 256 nm 波长检测能力并具有 1 cm 光程。

2.2 试剂

2.2.1 酒石酸。

2.2.2 约 0.02 mol/L 氢氧化钙溶液。

2.2.3 20 mg/L 山梨酸标准溶液:将 20 mg 山梨酸溶解于大约 2 mL 的 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液中,转移至 1 L 容量瓶后,加水定容至刻度。也可将 26.8 mg 山梨酸钾($C_6H_7KO_2$)溶解于水中并定容至 1 L。

2.3 步骤

2.3.1 蒸馏

将 10 mL 葡萄酒置于水蒸气蒸馏装置的蒸馏瓶中,加 1 g 酒石酸,收集 250 mL 蒸馏液。

2.3.2 标准曲线的准备

将标准溶液用水稀释成浓度分别为 0.5 mg/L,1.0 mg/L,2.5 mg/L 和 5 mg/L 的溶液。使用分光光度计在波长 256 nm 处测定其吸光度。用蒸馏水作空白,绘制标准曲线。

2.3.3 测定

将 5 mL 蒸馏液置于直径 55 mm 的蒸发皿上,加 1 mL 氢氧化钙溶液。在沸水浴上蒸发至干。用数毫升蒸馏水将残留物溶解,全部转移至 20 mL 容量瓶中,并用水冲洗定容。将 1 mL 氢氧化钙溶液用水定容至 20 mL,在波长 256 nm 处测定其吸光度,用水作空白。

根据标准曲线计算出溶液中山梨酸的浓度。

注:本方法中蒸发引起的损失忽略不计,测量的吸光度值为未稀释前的蒸馏液的 1/4。

2.4 结果计算

2.4.1 计算

葡萄酒中山梨酸浓度以 mg/L 表示。

$$X=100\times c$$

其中： X ——葡萄酒中山梨酸浓度(mg/L)；

c ——最终所得试样的山梨酸浓度(mg/L)。

参 考 文 献

- [1] Jaulmes P. ,Mestres R. & Mandrou B. , Ann. Fals. Exp. Chim. , n° spécial, réunion de Marseille,1961, 111-116.
- [2] Mandrou,B. ,Brun,S. & Roux E. , Ann. Fals. Exp. Chim. ,1975,725,29-48.
- [3] Chretien D. ,Perez L. & Sudraud P. ,F. V. ,O. I. V. ,1980,n° 720.

山梨酸(气相色谱法)

1 原理

用乙醚提取山梨酸,利用内标法进行气相色谱测定。

2 使用气相色谱法测定

2.1 仪器

2.1.1 气相色谱仪

配有火焰离子检测器的气相色谱仪,不锈钢柱(4 m×1/8 in)使用二甲基二硅烷预处理,固定相为附着在 80 目~100 目的硅藻土型色谱载体上的 5% 二甘醇琥珀酸盐、1% 磷酸的混合物(二甘醇琥珀酸盐-磷酸),或 7% 二甘醇己二酸盐、1% 磷酸的混合物(二甘醇己二酸盐-磷酸)。

操作条件:

- 柱温箱温度:175℃;
- 进样器和检测器温度:230℃;
- 载气:氮气(流速为 200 mL/min)。

注:其他类型柱子也可以较好地实现分离,尤其是毛细管柱(如 FFAP),本文中给出的方法仅作为参考示例。

2.1.2 微量调节注射器,10 μL 体积,最小刻度 0.1 μL。

2.2 试剂

2.2.1 乙醚,使用前蒸馏。

2.2.2 内标:1 g/L 十一烷酸 95%(V/V)乙醇溶液(C₁₁H₂₂O₂)。

2.2.3 硫酸水溶液,H₂SO₄,($\rho_{20^{\circ}\text{C}}$ = 1.84 g/mL),稀释 1/3(V/V)。

2.3 步骤

2.3.1 样品制备

将 20 mL 葡萄酒、2 mL 内标和 1 mL 稀硫酸置于一个大约 40 mL 容积的具塞试管。将试管翻转几次使溶液充分混合后,加入 10 mL 乙醚,振荡 5 min,将山梨酸提取至有机相,静置。

2.3.2 加标样品的制备

选择一个醚提取物在气相色谱中无山梨酸峰的葡萄酒。加入山梨酸使之浓度为 100 mg/L。按照 2.3.1 中方法处理 20 mL 该样品。

2.3.3 色谱

用微量调节注射器将 2 μL 2.3.2 中醚提取相注入色谱,然后注入 2 μL 2.3.1 中醚提取物。记录各色谱:检查山梨酸和内标物保留时间的一致性,记录每个色谱峰的峰高或面积。



2.4 结果计算

葡萄酒中山梨酸浓度,以 mg/L 表示,计算公式为:

$$X = \frac{h}{H} \times \frac{I}{i} \times 100$$

其中: X ——葡萄酒中山梨酸浓度,mg/L;

H ——加标溶液中山梨酸的峰高;

h ——测试溶液中山梨酸的峰高;

I ——加标溶液中内标物的峰高;

i ——测试溶液中内标物的峰高。

注:也可以通过峰面积来测定山梨酸的浓度。

参 考 文 献

- [1] Jaulmes P., Mestres R. & Mandrou B., Ann. Fals. Exp. Chim., n° spécial, réunion de Marseille, 1961, 111-116.
- [2] Mandrou, B., Brun, S. & Roux E., Ann. Fals. Exp. Chim., 1975, 725, 29-48.
- [3] Chretien D., Perez L. & Sudraud P., F. V., O. I. V., 1980, n° 720.

山梨酸(薄层色谱法)

1 原理

用乙醚提取山梨酸,用薄层色谱分离后,半定量评估其含量。本方法用于薄层色谱的痕量鉴别。

2 薄层色谱法

2.1 仪器

- 2.1.1 用荧光指示剂预涂 20 cm×20 cm 覆有聚酰胺胶体(厚 0.15 mm)的薄层色谱板。
- 2.1.2 薄层色谱展开槽。
- 2.1.3 微量加液器或微量可调注射器,5 μL ±0.1 μL 。
- 2.1.4 紫外灯(254 nm)。

2.2 试剂

- 2.2.1 乙醚,(C_2H_5)₂O。
- 2.2.2 硫酸水溶液, H_2SO_4 ($\rho_{20^\circ\text{C}}=1.84\text{ g/mL}$),稀释 1/3(V/V)
- 2.2.3 约 20 mg/L 山梨酸标准溶液,10%(V/V)乙醇/水混合物。
- 2.2.4 流动相:己烷+戊烷+乙酸(20:20:3)。

2.3 步骤

2.3.1 样品制备

吸取 10 mL 葡萄酒,移入约 25 mL 的具塞试管,加 1 mL 稀硫酸和 5 mL 乙醚,快速翻转试管使之充分混合,静置。

2.3.2 稀释标准溶液的制备

将 2.2.3 中的山梨酸标准溶液稀释成 5 个系列浓度的标准溶液:2 mg/L,4 mg/L,6 mg/L,8 mg/L 和 10 mg/L。

2.3.3 色谱条件

用微量调节注射器将 5 μL 2.3.1 中醚提取相和 2.3.2 中的稀释标准溶液各 5 μL 点在薄层板底端 2 cm 处,每个点间隔 2 cm。

将流动相注入色谱展开槽中,高度约 0.5 cm,待展开槽内溶剂蒸汽达到饱和状态。将薄层板盘置于其中,色谱展开 12 cm~15 cm(展开时间约 30 min),用流动的冷空气干燥薄层板,在 254 nm 紫外灯下观察薄层色谱。指示山梨酸存在的斑点会在色谱盘的橘黄色荧光背景下显示暗紫色。

2.4 结果计算

样品产生的点与标准溶液产生的点的接近程度,可以在 2 mg/L~10 mg/L 范围内半定量显示山梨酸的浓度。

样品中山梨酸浓度约为 1 mg/L 时,调整样品量为 10 μ L;样品中山梨酸浓度超过 10 mg/L 时,调整样品量为 5 μ L。

参 考 文 献

- [1] Jaulmes P. ,Mestres R. & Mandrou B. ,Ann. Fals. Exp. Chim. ,n° spécial, réunion de Marseille,1961, 111-116.
- [2] Mandrou,B. ,Brun,S. & Roux E. ,Ann. Fals. Exp. Chim. ,1975,725,29-48.
- [3] Chretien D. ,Perez L. & Sudraud P. ,F. V. ,O. I. V. ,1980,n° 720.