

保健酒的高效液相色谱指纹图谱分析

魏新军, 孙勋强, 魏倩倩

(河南科技学院食品学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 采用高效液相色谱建立了保健酒的石油醚-乙醚提取物的指纹图谱。试验条件为反相 C₁₈ 柱, 1.0 mL/min 流速, 紫外检测器(λ=321.2 nm)。通过分析比较色谱指纹图谱中的相对保留值和相对面积 S_r, 对不同批次的保健酒进行对比研究。结果表明, 该法简便可靠, 对保健酒的质量控制效果明显。

关键词: 保健酒; 高效液相色谱; 指纹图谱

中图分类号: TS262.91.0657.72 文献标识码: B 文章编号: 1001-9286(2005)12-0080-03

Fingerprints Analysis of Health Wine by High Performance Liquid Chromatography

WEI Xin-jun, SUN Xun-qiang and WEI Qian-qian

(Food Science Institute of Henan Science & Technology College, Xinxiang, Henan 453003, China)

Abstract: The fingerprints of petroleum ether-ether extracts of health wine were established by the use of high performance liquid chromatography and the relative technical parameters were as follows: reverse phase C-18 column, flow rate as 1.0 mL/min, and ultraviolet detector at 321.2 nm. Through the comparison and analysis of the relative retention value α and the area ratio S_r , the quality of health wine of different production batches was investigated. The results showed that the method was convenient and applicable in the quality control analysis of health wine. (Tran. by YUE Yang)

Key words: health wine; high performance liquid chromatography; fingerprint

色谱指纹图谱已广泛应用于中药生产的产品质量控制, 并成为国际公认的控制中药或天然药物质量的最有效的手段^[1-3]。因为保健酒通常含有中草药成分, 所以建立保健酒的指纹图谱研究方法意义非常重要。

中药指纹图谱反映了该中药的化学组成及其含量分布状况。可实现对中药的多组分和多指标分析^[4]。其基本属性是“整体性”和“模糊性”^[5]。通过指纹图谱的特征性, 对鉴别中药的真伪优劣及产品质量稳定性均具有重要的参考价值。劲牌保健酒之一——“中国劲酒”是以淮山药、仙茅、当归、肉苁蓉、枸杞子、黄芪、淫羊藿、肉桂、丁香等 9 种中草药为原料, 以蒸馏酒为酒基浸泡, 经勾兑调味而成的保健食品, 具有抗疲劳, 调节免疫力之功效。本文对“中国劲酒”的石油醚-乙醚提取物采用高效液相色谱法进行指纹图谱分析, 研究了不同批次的产品之间质量的差异。

1 材料与amp;方法

1.1 主要仪器材料

美国 Waters 公司高效液相色谱仪: 510 型高压泵, 2996 型二极管阵列检测器, 486 型可调波长紫外检测器, Empower 色谱工作站, 柱温箱, 恒温水浴锅; 北京市长风仪器仪表公司。

1.2 试剂

乙腈(色谱纯), 甲醇(色谱纯); 石油醚, 乙醚, 冰乙酸均为分析纯。

1.3 色谱条件

色谱柱: Novapak C₁₈ (美国 Waters 公司生产, 5 μm, 150 mm × 4.6 mm); 流动相: V(乙腈):V(0.15% 冰乙酸水溶液)=1:9; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 321.2 nm; 柱温: 27 °C; 进样量: 10 μL。

1.4 试验材料

湖北劲牌酒业有限公司生产的保健酒系列之一, 中国劲酒(小方瓶)。选择 10 个不同生产批次。

1.5 样品前处理

收稿日期: 2005-08-12

作者简介: 魏新军(1964-), 男, 副教授, 硕士, 从事食品分析研究, 发表论文 30 余篇。

“中国劲酒”含有8%的蔗糖和35%的酒精,且含有中药成分,组成较为复杂,需进行前处理。取酒样50.0 mL,用50.0 mL石油醚第一次萃取,再用50.0 mL石油醚第二次萃取;随后用50.0 mL乙醚第一次萃取,再用50.0 mL乙醚第二次萃取。合并萃取液,于45℃恒温水浴蒸干溶剂。以甲醇定容至10 mL,经0.45 μm膜过滤,接取少量试液供分析用。

2 结果与分析

2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 样品指纹图谱

10个不同生产批次的中国劲酒样品经过前处理后,按照试验条件分别进样分析,得到10个样品的液相色谱指纹图谱,见图1。

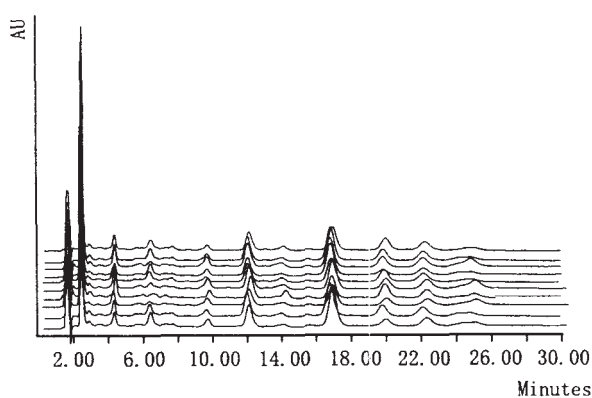


图1 10个中国劲酒样品的液相色谱指纹图谱

2.1.2 溶剂色谱图

按照试验条件,将作为溶剂的甲醇进样分析,以便在样品图谱中将其识别。甲醇色谱图见图2。

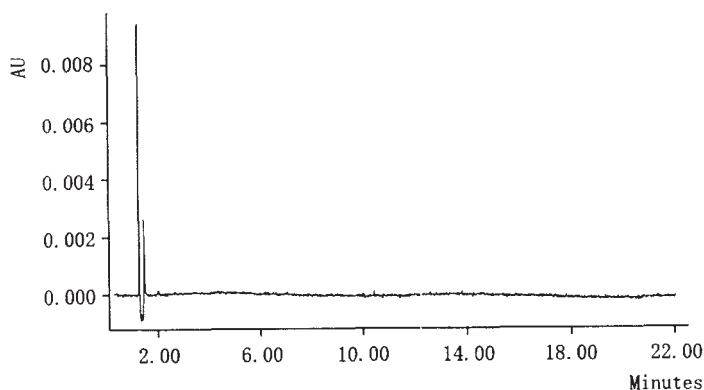


图2 溶剂色谱图

2.1.3 标准图谱的选择

通过对10个样品的图谱分析,其中1号样品色谱图(见图3)的色谱峰总面积较大,峰数较多且具有所用的共有峰,因此将其指定为标准图谱。

2.2 中国劲酒样品的指纹图谱特征分析

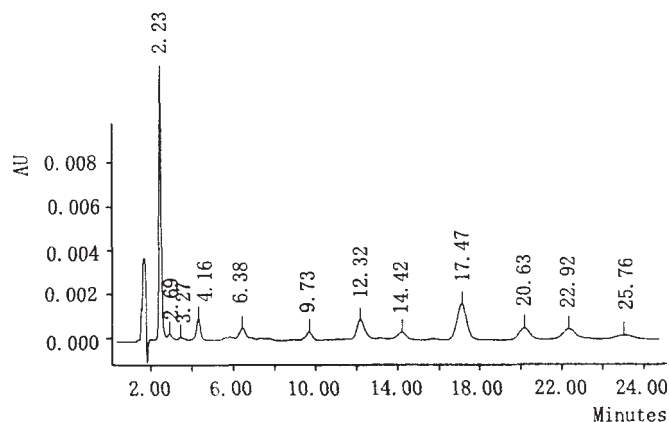


图3 1号样品指纹图谱

2.2.1 相对保留值和相对面积的计算

中国劲酒样品在试验条件下,色谱峰之间区分较好,基线平稳。在指纹图谱上选择一个出峰时间较居中,峰面积较大,并为所有样品所共有的组分作参照峰。本文选择标准图谱中保留时间为12.32 min的色谱峰作参照峰(见图3)。

相对保留值计算公式为:

$\alpha = t_i / t_s$,其中 t_i 为待测峰的绝对保留时间, t_s 为参照峰的绝对保留时间。

相对面积计算公式为:

$S_i = (\text{待测峰的峰面积} / \text{标准样品的总面积}) \times 100\%$

2.2.2 指纹图谱分析表

为消除仪器设备等因素对化合物保留时间的影响,按样品中各组分的相对保留值 α 大小次序排列,并在每个 α 项下标出该组分的相对面积 S_i ,即组成了该样品的指纹图谱分析表(见表1)。表中无对应的相对面积 S_i 时表示该样品不具有该 α 值的色谱峰。

2.2.3 共有峰分析

在不同样品间,具有相同 α 值的峰,即为共有峰。通过表1可知,在10个不同批次的中国劲酒样品之间,有8个色谱峰为全部样品所共有,它们的相同保留值 α 分别为0.181, 0.338, 0.517, 0.790, 1.000, 1.418, 1.674和1.861。这8个峰就是指纹图谱的特征峰,可作为鉴别产品质量稳定的必要条件之一。

另外,还有1个色谱峰为9个样品所共有,1个色谱峰为8个样品所共有,它们的相同保留值 α 分别为1.171和2.091,也具有重要的参考价值。

2.2.4 共有峰面积的比较

色谱峰代表样品中所含成分的种类,而峰面积代表成分的含量多少。所以,通过对共有峰相对面积 S_i 的比较,可以进一步判断所测样品之间产品质量的稳定性。经过对10个样品中8个共有峰的相对面积 S_i 比较后可以看出,1号、2号、5号、8号和9号样品之间存在的

表1 中国劲酒样品的指纹图谱分析结果 (%)

α	S _r									
	1号	2号	3号	4号	5号	6号	7号	8号	9号	10号
0.181	38.49	44.33	40.42	36.54	42.27	50.72	42.36	39.83	37.96	37.60
0.218	0.67	0.72	0.60	0.30	0.23	/	/	/	0.19	/
0.225	/	/	/	/	/	0.09	0.67	0.13	/	/
0.265	0.62	0.10	/	0.34	/	0.29	/	0.27	/	0.21
0.338	4.76	5.51	6.84	5.15	4.93	3.88	3.20	3.46	5.08	6.22
0.467	/	/	/	/	0.66	/	/	/	/	0.16
0.480	/	/	0.40	0.60	/	/	/	/	/	/
0.517	3.35	2.00	1.85	4.82	0.97	2.83	3.90	2.72	3.95	0.76
0.622	/	0.37	/	0.61	/	0.52	/	0.64	1.28	/
0.790	3.28	3.53	1.53	4.00	3.87	4.23	3.13	3.29	2.89	6.25
1.000	7.86	7.47	11.16	7.90	8.90	6.97	9.12	9.47	7.77	9.72
1.171	3.22	3.28	3.61	4.02	1.93	1.60	/	2.15	2.04	4.08
1.296	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.71
1.418	18.89	15.88	12.32	24.68	14.68	13.56	24.03	18.56	14.26	13.86
1.674	8.11	8.53	11.31	2.86	6.96	9.09	4.39	8.18	11.78	8.57
1.861	7.30	5.22	7.06	5.45	7.38	6.20	5.58	7.88	8.44	6.68
2.020	/	/	/	2.74	/	/	/	/	/	/
2.091	3.45	3.05	2.90	/	7.21	/	2.69	3.43	4.37	5.05
重叠率	100.0	96.0	91.7	84.6	91.7	83.3	81.8	88.0	91.7	88.0

差异较小,且重叠率高,均大于88%。虽然3号、4号、6号、7号和10号样品中某个或某几个共有峰的相对面积S_r存在的差异较大,但其重叠率较高,均大于80%(一般认为重叠率大于75%,即为稳定^[1])。

重叠率计算公式:重叠率(%)=[2×(待测样品与标准样品共有峰)/(待测样品峰数+标准样品峰数)]×100%。其中1号样品的指纹图谱指定为标准,从1号至10号样品的指纹图谱重叠率见表1。

3 讨论

本研究在特定的试验条件下,建立了劲牌保健酒的石油醚-乙醚提取物的高效液相色谱指纹图谱,通过对共有峰、相对保留值、相对面积以及重叠率的研究,建立了指纹图谱特征性分析方法,比较了10个不同批次中国劲酒样品之间的产品质量差异。结果表明,10个样品之间具有8个共有峰,共有峰的相对面积大多数差别不大,且指纹图谱重叠率均大于80%。综合考虑,认为本次试验所分析的10个不同批次的产品质量比较稳定。

参考文献:

- [1] 程翼宇,陈闽军,吴永江.化学指纹图谱的相似性测度及其评价方法[J].化学学报,2002,60(11):2017-2021.
- [2] 刘荣霞,周婷婷,董婷霞,等5人.建立评价当归质量的HPLC指纹图谱分析方法[J].中国药学杂志,2003,38(10):757-760.
- [3] 黄朝瑜,赵陆华,梅玲华,等4人.淫羊藿药材HPLC指纹图谱的研究[J].中国天然药物,2003,1(3):146-149.
- [4] 曾志,杨东晖,陶敬奇,等5人.高效液相色谱指纹图谱在中药芦根上的应用[J].分析化学,2004,32(8):1035-1038.
- [5] 陈泓,郭勇,王智勇,等4人.指纹图谱用于白酒质量的控制[J].化学研究与应用,2004,16(3):373-374.

(上接第76页)

表1表明,主酵结束后,13℃主酵的真正发酵度已达52.2%,较9℃主酵高,说明了高温发酵速率高。可见酵母的发酵能力随温度的升高而增大,但并非所有参加糖酵解的酶的活性都增加,据Heuse和Piendl的报道^[6],按照酶与温度的关系可分为3组(7.5℃,10℃,12℃):酶活性随温度升高而增大的有麦芽糖酶、麦芽三糖酶、磷酸果糖激酶、丙酮酸脱羧酶、丙酮酸激酶、醇脱氢酶;酶活性随温度升高而下降的有己糖激酶、甘油酸激酶。

表2表明,后酵结束后,13℃主酵的达到66.4%的发酵度,酒精度与发酵度均较9℃主酵的高,且控制了较9℃适当的酵母代谢副产物高级醇和双乙酰含量。

3 结论

在13℃主酵,菌株快速发酵,不但缩短了发酵周期,而且发酵快,pH降低快,有利于获得淡爽风格的啤

酒,啤酒稳定性也好。适合于酿造目前国际流行的淡爽型啤酒,在最短的时间内达到要求的发酵度和代谢产物,有利于节约生产成本,提高经济效益。

参考文献:

- [1] 汪江波,郭健.啤酒酿造过程中的高级醇[J].湖北工学院学报,2000,15(1):75-77.
- [2] 管敦仪.啤酒工业手册(中册)[M].北京:轻工业出版社,1982:211-216.
- [3] GB/T4928-2001.啤酒分析方法[S].
- [4] 周德庆.微生物学实验手册[M].上海:科学技术出版社,1986.
- [5] 黄伟坤.食品检验与分析[M].北京:轻工业出版社,1989.
- [6] 管敦仪.啤酒工业手册(修订版)[M].北京:轻工业出版社,1998.
- [7] 顾国贤.酿造酒工艺学(第二版)[M].北京:轻工业出版社,1996.
- [8] Hense K J, Piendl A. Fermentation temperature and enzyme pattern of yeasts[J]. Brewers Digest, 1974, (49):82-86.