

食品中偏酒石酸的高效液相色谱法检测研究

陈健¹, 杨方¹, 黄晓蓉¹, 林杰¹, 林真²

(1 福建出入境检验检疫局检验检疫技术研究重点实验室, 福州 350003

2 福建生物工程职业技术学院保健营养学系, 福州 350002)

摘要: 主要探讨应用高效液相色谱法检测葡萄酒、葡萄罐头、汽水等食品中的偏酒石酸。以 Rezex ROA-Organic Acid 色谱柱为分析柱, 确立了食品中偏酒石酸的高效液相色谱检测法。通过试验, 考察了 9 种常见有机酸对食品中偏酒石酸检测的影响, 结果显示, 在试验条件下, 9 种有机酸不会对偏酒石酸的检测造成影响。对方法的回收率和精密度作了分析探讨, 结果在所确定的实验条件下, 峰面积和标准溶液在 0.1~20mg/mL 范围内呈良好线性关系, 线性系数大于 0.999, 回收率处于 90.0%~100.0%, 变异系数均小于 5.0%。

关键词: 液相色谱; 偏酒石酸; 食品; 葡萄酒; 葡萄罐头; 汽水

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-2513(2011)02-xxxx-04

Determination of metatartaric acid in food by high performance liquid chromatographic

CHEN Jian¹, YANG Fang¹, HUANG Xiaorong¹, LIN Jie¹, LIN Zhen²

(1. Fujian Entry-Exit Inspection & Quarantine Bureau, Fuzhou 350003, China

2. Health Department of Fujian Technology Biological Engineering Institute, fuzhou 350002, China)

Abstract The High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) method was employed for determining the metatartaric acid in wine, canned grape, soft drink and so on with Rezex ROA-Organic Acid of column. Then the effect of the nine organic acid was studied by testing and the result proved that the nine kinds of organic acids did not affect the partial detection of metatartaric acid. The peak area and the standard solution in the 0.1~20mg/mL keep a good linear relationship with a correlation coefficient of more than 0.999. The extraction recoveries were between 94.5%~100.0% and the RSD less than 5.0%.

Key words HPLC; metatartaric acid; food; wine; canned grape; soft drink

偏酒石酸 (metatartaric acid) 是一种酸度调节剂, 分子式 $C_6H_{10}O_{11}$, 为微黄色轻质多孔性固体, 具络合作用, 可与酒石酸盐的钾或钙离子结合成可溶性络合物, 使酒石酸盐处于溶解状态。多应用于葡萄罐头和葡萄酒中, 以防止生成酒石酸盐沉淀。中国《食品添加剂使用卫生标准》

(GB 2760) 规定, 偏酒石酸可按生产需要适量添加到葡萄罐头中, 实际使用时添加量约 20g/kg^[1]; 而德国葡萄酒法及欧盟与加拿大有关葡萄酒协议允许的添加量为 100g/L。目前, 偏酒石酸的检验方法采用的是国际葡萄与葡萄酒组织 (OIV) 所发布的分光光度法, 这种方法操作复杂,

收稿日期: 2010-11-09

作者简介: 陈健 (1979-), 工程师, 主要从事食品理化分析检测工作。

过程繁琐，在实际检测过程中重复性难以控制^[2-4]。本文研究了以 Rezex ROA - Organic Acid 色谱柱为分析柱，建立食品中偏酒石酸的液相色谱检测法，该方法简便、快速、适应性好，技术参数指标符合企业和检测机构进行食品理化分析的要求。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 液相色谱仪，含 DAD 二极管阵列检测器；Milli-Q System 超纯水制备器（美国 Millipor 公司）。

甲醇、甲酸（色谱纯，德国 merck 公司），硫酸（优级纯，上海试一化学试剂有限公司），水为超纯水，其余试剂均为分析纯。

草酸（优级纯，中国医药集团上海化学试剂有限公司），柠檬酸（分析纯，上海申博化工有限公司），酒石酸、苹果酸、抗坏血酸、琥珀酸、乳酸（分析纯，上海试一化学试剂有限公司），偏酒石酸（分析纯，上海试一化学试剂有限公司，纯度 > 92%）。

1.2 色谱条件

色谱柱：Rezex ROA - Organic Acid 分析柱；流动相：0.0025mol/L 硫酸溶液；流速：0.4mL/min；检测波长：210nm；柱温：40℃；进样量：10μL。

1.3 标准储备液和工作液配制

准确称取适量偏酒石酸标准品，用流动相溶解，储备液浓度为 20mg/mL；并根据需要将储备液用流动相稀释成 0.1mg/mL ~ 10.0mg/mL 的标准工作液。

1.4 样品处理制备

称取样品 10.00mL，用 0.0025mol/L 硫酸溶液定容至 100mL，振摇 10min 后取 10mL 以 11000r/min 离心 5min，取上清液过 0.45μm 滤膜，高效液相色谱测定。

2 结果与讨论

2.1 实验条件分析

2.1.1 色谱柱分析

实验室中液相色谱分析常常使用 C18 或 C8

柱作为分析柱^[2]，但通过研究发现，包括偏酒石酸在内的有机酸在此类柱上的保留时间短，较高流速时各峰无法区分开来，采用较低流速分离效果较好，但影响了峰形，出现拖尾、双头峰。原因可能是因为偏酒石酸极性较强，需采用酸性较强的流动相，对色谱柱损耗很大。在进行葡萄酒实际样品分析时，由于葡萄酒成分复杂，所含有机酸与糖类丰富，而偏酒石酸的最大吸收波长位于 210nm 附近，干扰严重，基线噪声大，常出现干扰峰无法实现良好的分离效果。所以，这类色谱柱不适于分析偏酒石酸。

经研究最后采用了 Rezex ROA - Organic Acid 分析柱（300 × 7.8mm，8μm），该色谱柱为离子排斥色谱柱，填料为磺化的聚苯乙烯 - 二乙烯苯共聚物，带有 8% 交联氢，pH 范围为 1 ~ 3 适用于有机酸、糖类、醇类、脂肪酸或中性化合物以及氨基糖的分析。

2.1.2 其他色谱条件分析

本文对流动条件的影响进行了考察。由于色谱柱限制，流速为 0.4mL/min 比较了 0.0025mol/L、0.005mol/L 硫酸溶液以及 0.0025mol/L 硫酸溶液 - 甲醇（95 + 5 v/v）三种流动条件，其结果没有明显区别，最终选择 0.0025mol/L 硫酸溶液作为流动相。柱温在 35℃、40℃、50℃时未见有明显区别，本文选择 40℃。

在以 0.0025mol/L 硫酸溶液为流动相，流速为 0.4mL/min 时，检测谱图如图 1，偏酒石酸保留时间 10.3min。

2.2 实验结果讨论

2.2.1 标准曲线回归方程与相关系数

在本文的实验条件下，以峰面积和标准溶液浓度作图，液相色谱在 0.1mg/mL ~ 20mg/mL 范围内呈良好线性关系；线性方程与相关系数见表 1。

表 1 液相色谱法的线性方程与相关系数

Tab. 1 The linear equation and correlation coefficient of the liquid chromatography

检测方法	线性方程	相关系数
液相色谱法	y = 1795.7x + 261.87	0.9994

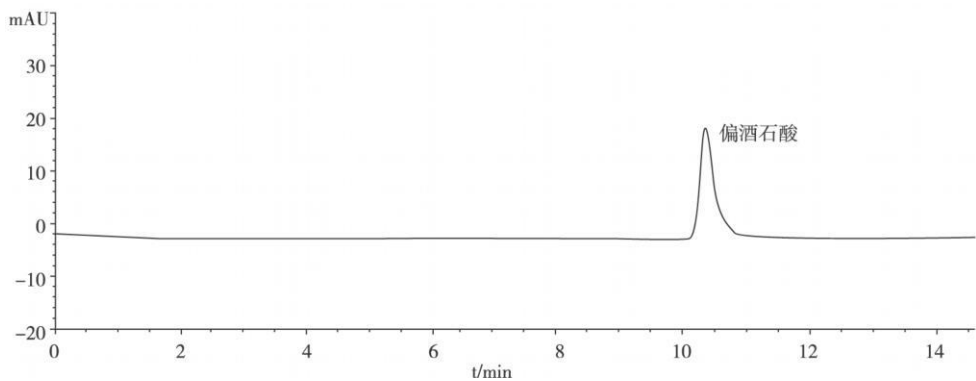


图 1 偏酒石酸色谱图

Fig 1 The chromatogram of metatartric acid

2.2.2 方法精密度试验

由于葡萄酒在制备过程中添加了偏酒石酸，本文以分别以干红、干白、红、白葡萄酒为基

体，按实验条件条件进行精密度实验，结果数据见表 2。

表 2 葡萄酒的精密密度试验
Tab 2 The precision test of wine

基体	10次测定值 (g/kg)										平均值 (g/kg)	RSD (%)
白葡萄酒	1.63	1.61	1.63	1.64	1.63	1.64	1.64	1.64	1.64	1.63	1.63	0.58
红葡萄酒	23.43	24.61	22.33	22.86	22.71	23.84	23.66	23.24	24.28	23.88	23.48	3.04
干白葡萄酒	1.72	1.73	1.77	1.74	1.74	1.75	1.72	1.74	1.71	1.76	1.74	1.08
干红葡萄酒	83.85	84.54	83.91	85.41	84.23	83.80	84.54	84.38	85.60	84.54	84.48	0.73

如表 2所示，各类葡萄酒的相对平均偏差均小于 1%，表明结果的重复性良好，精密密度较高。

2.2.3 方法准确度试验

以白葡萄酒、葡萄罐头、汽水作为基质，进行 0.5g/kg、20g/kg、100g/kg三个浓度水平的添加回收实验，每个样品基体、每个添加水平重复测定 10次；由于所分析的样本中均可检出偏酒石酸，本文中以平行测定 10次的平均值作为样品本身所含偏酒石酸的浓度，对其添加回收率的计算为扣除样品本身所含偏酒石酸浓度，回收率见表 3。

试验表明，本方法的平均回收率在 90.0%~100.0%，说明该方法准确度较高。

2.2.4 其他有机酸对检测结果的影响研究

因食品成份较复杂，尤其是葡萄酒、果汁等样品中含有多种有机酸，本文还考察了草酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸、抗坏血酸、琥珀酸、乳

酸、甲酸、乙酸等 9种常见有机酸对检测的影响^[5-9]。在所确定的实验条件下，各种有机酸的色谱图见图 2。

上图中，按先后出峰顺序分别为偏酒石酸、草酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸、抗坏血酸、琥珀酸、乳酸、甲酸、乙酸。色谱图表明，在所确定的实验条件下，以上几种有机酸不会对偏酒石酸检测造成干扰。

3 结论

本文所建立的高效液相色谱法能够准确、灵敏地测定葡萄酒、葡萄罐头、汽水等食品中的偏酒石酸的含量。由于本文建立的食品中偏酒石酸高效液相色谱分析方法简便，前处理简单，分析结果可靠，可广泛应用于生产过程中的质量控制及产品质量检验。

表 3 回收率与精密度试验

Tab. 3 The recovery rate and the precision test

基体	回收率 (%)			基体	回收率 (%)			基体	回收率 (%)		
	添加 0.5g/kg	添加 20g/kg	添加 100g/kg		添加 0.5g/kg	添加 20g/kg	添加 100g/kg		添加 0.5g/kg	添加 20g/kg	添加 100g/kg
葡萄酒	83.3	99.2	99.1	葡萄罐头	97.9	98.5	98.0	汽水	103.3	99.5	102.4
	90.2	100.3	99.3		92.2	99.3	96.7		99.7	98.3	98.6
	93.7	99.5	99.4		96.7	99.4	99.8		98.7	101.5	99.5
	94.9	99.4	99.1		95.1	100.0	97.6		101.0	98.3	98.7
	95.5	99.5	99.0		97.5	98.4	101.2		99.1	99.5	96.6
	96.7	99.2	99.0		96.7	98.3	97.5		100.8	98.2	103.2
	97.4	99.2	98.9		95.7	99.5	98.1		97.4	100.5	97.7
	97.4	99.3	98.7		98.7	98.1	99.6		98.8	98.9	98.7
	97.8	99.1	98.8		99.6	97.8	97.9		98.8	99.5	99.4
	98.1	99.1	98.5		95.1	100.8	100.8		102.7	103.8	98.5
平均值 (%)	94.5	99.4	99.0	平均值 (%)	94.5	99.4	99.0	平均值 (%)	100.0	99.8	99.4

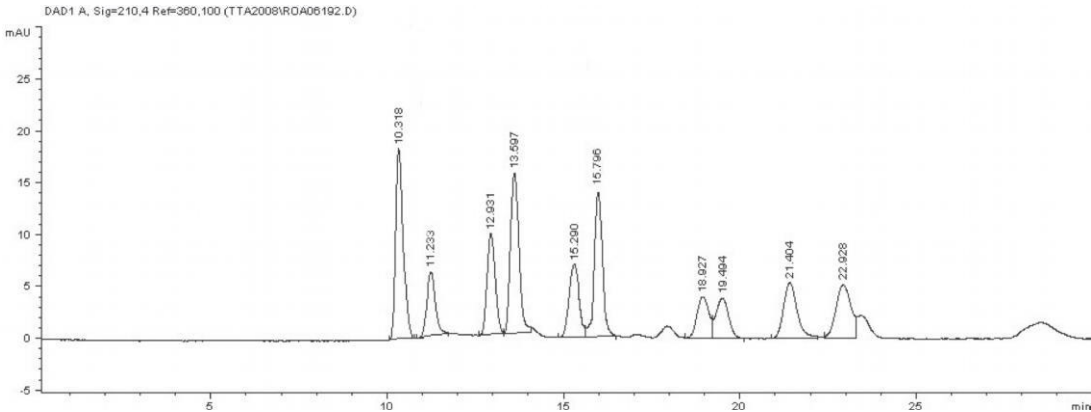


图 2 10种有机酸色谱图

Fig 2 The chromatogram of ten organic acid

参考文献:

[1] 王茂起, 王竹天, 陈君石, 等. GB 2760- 2007 食品添加剂使用卫生标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007

[2] 黎源倩, 王光建, 杨庆, 等. GB/T 5009 157- 2003 食品中有机酸的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2004

[3] 关家锐, 邓丛蕊, 王吉顺, 等. 衍生化反相高效液相色谱测定葡萄酒中有机酸的研究 [J]. 色谱, 1993 11(5): 282- 285.

[4] 康俊杰, 李艳. HPLC 检测葡萄酒中有效成分的研究进展 [J]. 酿酒科技, 2009 (9): 112- 115

[5] 段雪荣, 陶永胜, 杨雪峰. HPLC 法快速检测李子酒中多种有机酸 [J]. 西北农业学报, 2007 16 208- 210

[6] 冯德明, 张洋, 赵惠明, 等. 反相高效液相色谱法测定黄酒中的有机酸 [J]. 中国酿造, 2009 (3): 157- 161.

[7] 孙喜房, 李春, 武占省, 等. HPLC 测定葡萄酒中有机酸方法的研究 [J]. 石河子大学学报, 2006 12 728- 731.

[8] 李小平, 姚浔平, 范建中, 等. 果汁中 9 种有机酸的反相高效液相色谱法测定 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008 18 (4): 582- 584

[9] DARTGENAVE C, JEANDET P, MAUJEAN A. Study of the contribution of the major organic acids of wine to the buffering capacity of wine in model solutions [J]. Am. J. Enol. Viti., 2000 51 (4): 352- 356