

保健酒中草酸含量检测方法研究

李先芝,毛琼丽,关宏霞,张继斌

(劲牌有限公司,湖北 大冶 435100)

摘要: 建立保健酒中草酸含量的检测方法。选用 ZORBAX SB-Aq 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),以磷酸二氢钾的水溶液(pH3.2)为流动相进行洗脱,流动相流速为 0.80 mL/min,柱温箱温度为 30 ℃,进样量为 10 μL,紫外检测器检测波长为 220 nm。草酸在 27.72~887.16 mg/L 范围内呈良好的线性关系,相关系数 R=0.9999,平均加样回收率 102.87%,RSD=2.45%(n=6)。该方法简便、准确、重复性好、精密度高,可用于保健酒中草酸的质量控制。

关键词: 检测方法; 保健酒; 草酸; 液相色谱; 含量测定

中图分类号:TS262.1;TS261.4;TS261.7

文献标识码:B

文章编号:1001-9286(2012)02-0073-02

Determination of Oxalic Acid Content in Healthcare Wine

LI Xianzhi, MAO Qiongli, GUAN Hongxia and ZHANG Jibin

(Jingpai Co.Ltd., Daye, Hubei 435100, China)

Abstract: A HPLC method for the measurement of the content of oxalic acid in healthcare wine had been developed as follows: stationary phase was ZORBAX SB-Aq column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), mobile phase was aqueous solution of potassium dihydrogen phosphate (pH value was 3.2), the flow rate of mobile phase was 0.80 mL/min, the column temperature was at 30 ℃, the injection volume was 10 μL, the wavelength of UV detector was 220 nm. The measurement results showed that the standard curve was linear within the range of 27.72~887.16 mg/L, r=0.9999, and the average recovery was 102.87% with RSD=2.45% (n=6). Such developed method was simple and accurate with good reproducibility and high precision, and suitable for the determination of oxalic acid content in healthcare wine.

Key words: determination methods; healthcare wine; oxalic acid; HPLC; content measurement

保健酒由多种植物药材及基酒调配而成^[1-2],而植物药材中含有较多草酸,故其也可能使保健酒产品中草酸含量过高。因草酸易使酒体产生沉淀,故需控制保健酒中草酸的含量,以保证其质量。

1 实验材料、仪器及方法

1.1 试剂

草酸标准物质:GBW(E)080710;磷酸(色谱纯);磷酸氢二钠、磷酸二氢钾(均分析纯)。

pH7的磷酸氢二钠水溶液:精密称取磷酸氢二钠 3.58 g 用二次蒸馏水溶解定容至 200 mL,用磷酸调 pH7。

1.2 仪器

Prostar 高效液相色谱仪(230 三元梯度泵、410 自动进样器、DT-2038 型柱温箱及 Prostar 330 二极管阵列检测器),ZORBAX SB-Aq 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);

电子天平:十万分之一电子天平,型号为 AB135-S; 万分之一电子天平,型号为 FA2004。

1.3 测定方法^[3-4]

收稿日期:2011-10-17

作者简介:李先芝(1978-),女,工程师。

1.3.1 色谱条件

经过系列实验后确定草酸分析的色谱条件如下:称取 5 g 磷酸二氢钾溶解定容至 1000 mL 后用色谱纯磷酸调节至 pH3.2,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后作为流动相,流动相流速为 0.80 mL/min,柱温箱温度为 30 ℃,二极管阵列检测器检测波长为 220 nm,供试品溶液与对照品溶液进样量为 10 μL。色谱柱为 Agilent 公司的 ZORBAX SB-Aq 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)。

1.3.2 溶液的制备

1.3.2.1 供试品溶液的制备

选择 Waters 公司的 Oasis MAX 固相萃取小柱进行样品的前处理。上样前用 2 mL 甲醇活化,然后用 4 mL 二次蒸馏水进行平衡。精确吸取 50.00 mL 酒样在旋转蒸发仪上以 50 ℃蒸发至近干,用二次蒸馏水溶解定容至 25.00 mL,然后上样 1.00 mL 于处理好的固相萃取小柱上,用 3.00 mL pH7 的磷酸氢二钠水溶液进行洗脱,收集洗脱液,充分混匀后经 0.45 μm 微孔滤膜过滤即可作为供试品溶液备用。

1.3.2.2 对照品溶液的制备

称取适量对照品溶液,用流动相制成 887.1641 mg/L 的草酸溶液,作为对照品溶液备用。

2 结果与分析

2.1 线性关系考察

配制不同浓度的草酸溶液,在上述色谱条件下进行色谱分析,得到各浓度的草酸色谱峰的峰面积(表1),以浓度为横坐标,相对应的色谱峰面积为纵坐标建立标准曲线,得到线性方程如下: $Y=16616x, R^2=0.9999$ 。结果表明,草酸在 27.7239~887.16 mg/L 范围内呈良好的线性关系。

表1 各浓度下色谱峰面积

浓度(mg/L)	峰面积	浓度(mg/L)	峰面积
27.7239	437944	221.791	3719126
55.4478	814162	443.5821	7351944
110.8955	1781710	887.1641	14610869

2.2 精密度试验

选择线性范围实验中浓度为 221.7910 mg/L 的草酸标准物质在上述色谱条件下连续进样分析 6 次,得到相应的色谱峰面积,计算峰面积的 RSD 值。计算得到精密度的 RSD 值为 0.76%,表明本法精密度良好。精密度实验的相关数据见表 2。

表2 精密度试验结果

进样次数	峰面积	进样次数	峰面积
1	3764962	4	3771071
2	3726753	5	3723188
3	3697498	6	3719126

2.3 草酸稳定性试验

选择线性范围实验中浓度为 221.7910 mg/L 的草酸标准物质作为稳定性试验的供试品溶液,在上述色谱条件下分别在 0、1 h、2 h、4 h、8 h、16 h 时进样分析,得到相应的峰面积(表3),计算峰面积的 RSD 值。计算得到稳定性实验的 RSD 值为 1.69%,结果表明,供试品溶液在 16 h 内基本稳定。

表3 稳定性试验结果

时间(h)	峰面积	时间(h)	峰面积
0	3726753	4	3630302
1	3723188	8	3637566
2	3764962	16	3616808

2.4 重复性试验

选择一个保健酒样品作重复性试验,按照上述供试品溶液制备方法将其制备为供试品溶液,再在上述色谱条件下进行色谱分析,利用建立的标准曲线计算各供试品溶液中草酸的含量,在计算出追风酒样品中草酸含量

的同时计算重复性实验的 RSD 值。计算得到样品中草酸的含量为 164.763 mg/L,重复性实验的 RSD 值为 1.52%。重复性实验的相关数据见表 4。

表4 重复性实验结果

实验次数	峰面积	供试品含量(mg/L)	样品含量(mg/L)
1	1794025	107.968	161.952
2	1796825	108.136	162.204
3	1836597	110.53	165.795
4	1813340	109.13	163.695
5	1852359	111.478	167.217
6	1857871	111.81	167.715

2.5 加样回收率试验

选择已知草酸含量的保健酒样品(草酸含量为 164.763 mg/L)作为回收率实验样品。在样品中添加草酸含量不同的对照品溶液,然后按照供试品溶液制备方法制备供试品溶液,在确定的色谱条件下进行色谱分析,得到各供试品溶液的色谱峰面积。根据建立的标准曲线计算出各样品中的草酸含量,再根据添加量计算出草酸的回收率,并计算回收率的 RSD 值。得到各添加量下的平均回收率为 103.56%,RSD 值为 2.24%。加样回收率试验结果见表 5。

表5 加样回收率试验结果

序号	峰面积	供试品浓度(mg/L)	酒样中草酸量(mg)	测得添加量(mg)	实际添加量(mg)	回收率(%)
1	2039450	122.738	5.4921	3.7133	3.5487	104.64
2	2022711	121.73	5.4921	3.6377	3.5487	102.51
3	2112680	127.145	5.4921	4.4438	4.4358	100.18
4	2221276	133.68	5.4921	4.5339	4.4358	102.21
5	2493038	150.035	5.4921	5.6605	5.323	106.34
6	2504810	150.744	5.4921	5.6137	5.323	105.46

3 结果与讨论

试验过程中曾对固相萃取小柱的洗脱条件进行了多次考察,结果表明,以 pH7 的磷酸氢二钠水溶液洗脱效果最好,故最终选用 pH7 的磷酸氢二钠水溶液进行洗脱。

本试验采用高效液相色谱法测定保健酒中草酸的含量,结果重复性好、精密度高,供试品溶液在 16 h 内稳定,结果准确可靠,可以用来进行保健酒质量的控制。

参考文献:

- [1] 宁准梅,黄玮岚,王勤.传统保健酒中药浸提工艺的研究[J].酿酒科技,2011(5):81-83.
- [2] 刘源才,胡辉,陈敬炳,等.保健酒挥发性风味物质的提取与鉴定[J].酿酒科技,2011(9):71-73.
- [3] 刘立梅.反相高效液相法和荧光光度法测定啤酒中草酸含量的应用和比较[J].酿酒科技,2009(5):117-120.
- [4] 任光明,闫永正,张海容.荧光法测定啤酒中的草酸[J].酿酒科技,2006(12):110-111.