

高效液相色谱法测定猕猴桃酒中 4种有机酸含量

倪慧¹, 李华佳², 李可², 尚雪娇¹, 朱永清², 郭壮^{1,*}

(1. 湖北文理学院 食品科学技术学院 鄂西北传统发酵食品研究所, 湖北 襄阳 441053;

2. 四川省农业科学院 农产品加工研究所, 四川 成都 610066)

摘要:建立高效液相色谱法同时测定猕猴桃酒中奎宁酸、苹果酸、乳酸和柠檬酸含量的方法。色谱条件:流动相为0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液, pH 值为 2.90, 色谱柱为 InertSustainSwift C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流速为 1.00 mL/min, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μL, 检测波长为 215 nm。在此条件下, 4种有机酸精密性试验相对标准偏差值均小于 0.10%, 重复性试验相对标准偏差值均小于 1.00%, 检出限在 4.50 mg/L~6.60 mg/L 之间, 标准曲线相关系数均在 0.999 0 以上, 样品加标回收率在 99.25% 和 100.16% 之间。使用该法对 10 份猕猴桃酒有机酸分析发现, 奎宁酸、苹果酸和柠檬酸为猕猴桃酒中的主要有机酸, 含量分别为 7.83 mg/mL~8.60 mg/mL、7.17 mg/mL~7.66 mg/mL 和 4.53 mg/mL~6.09 mg/mL。

关键词:猕猴桃酒; 有机酸; 高效液相色谱法; 二极管阵列检测器; 优化

The Content of 4 Kinds of Organic Acids in Kiwi Wine Determined by HPLC

NI Hui¹, LI Hua-jia², LI Ke², SHANG Xue-jiao¹, ZHU Yong-qing², GUO Zhuang^{1,*}

(1. Northwest Hubei Research Institute of Traditional Fermented Food, College of Food Science and Technology,

Hu Bei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, Hubei, China; 2. Institute of Agro-products

Processing, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, Sichuan, China)

Abstract: The high performance liquid chromatography (HPLC) was used for establishing a method for the

基金项目:成都市产业集群协同创新项目(2015-cp030031-nc);湖北省荆楚卓越工程师协同育人计划(201657)

作者简介:倪慧(1997—),女(汉),本科在读,研究方向:食品生物技术。

* 通信作者

- microspheres as effectual surface enhanced Raman scattering (SERS) substrates for highly selective and sensitive detection of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT)[J]. *Analyst*, 2013, 138(9): 2712-2719
- [10] Zhu C, Meng G, Zheng P, et al. A Hierarchically Ordered Array of Silver-Nanorod Bundles for Surface-Enhanced Raman Scattering Detection of Phenolic Pollutants[J]. *Advanced Materials*, 2016, 28(24): 4871-4876
- [11] 朱颖洁, 郭磊, 刘易, 等. 基于壳层隔绝纳米粒子和在线裂解-吹扫捕集的血液氰化物表面增强拉曼光谱快速检测方法[J]. *分析化学*, 2017(5): 627-632
- [12] 汤俊琪, 田超, 曾崇毅 等. 碱性银胶的表面增强拉曼效应及对牛奶中三聚氰胺的检测[J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(3): 709-713
- [13] FRENS, G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions[J]. *Nature Physical Science*, 1973, 241(105): 20-22
- [14] Lee P C, Meisel D J J. Adsorption and Surface-Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1982, 86(17): 3391-3395
- [15] Lu P, Huang Y, Li C, et al. Detection of triphenylmethane drugs in fish muscle by surface-enhanced raman spectroscopy coupled with Au-Ag core-shell nanoparticles[J]. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 2014: 3
- [16] 林翔. SERS 基底的制备及其用于食品中污染物的快速检测[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2016:37-38
- [17] Alvarez-Puebla R A, Liz-Marzan L M. Traps and cages for universal SERS detection[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(1): 43-51
- [18] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 中华人民共和国国家标准: GB/T 22388-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-10

收稿日期: 2018-09-20

simultaneous determination of quinic acid, malic acid, lactic acid and citric acid in kiwi wine. Chromatographic conditions: mobile phase was 0.01 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution, pH value was 2.90, column was InertSustainSwift C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), flow rate was 1.00 mL/min, column temperature was 30 °C, injection volume was 20 μL, and detection wavelength was 215 nm. Under these conditions, the relative standard deviation of precision test of each organic acid was less than 0.10 %, the relative standard deviation of reproducibility of each organic acid was less than 1.00 %, the detection limit of 4 kinds of organic acid were among 4.50 mg/L and 6.60 mg/L, the correlation coefficient of each standard curve was above 0.999 0, and the recoveries of the samples were among 99.25 % and 100.16 %. Using this method, organic acid analysis of 10 pieces of kiwi wine revealed that tonic acid, malic acid and citric acid were the main organic acids in kiwi wine, with contents of 7.83 mg/mL–8.60 mg/mL, 7.17 mg/mL–7.66 mg/mL and 4.53 mg/mL–6.09 mg/mL respectively.

Key words: kiwi wine; organic acid; high performance liquid chromatography; diode-array detector; optimization

引文格式:

倪慧,李华佳,李可,等.高效液相色谱法测定猕猴桃酒中4种有机酸含量[J].食品研究与开发,2019,40(12):205–211
NI Hui, LI Huajia, LI Ke, et al. The Content of 4 Kinds of Organic Acids in Kiwi Wine Determined by HPLC[J]. Food Research and Development, 2019, 40(12):205–211

猕猴桃又称奇异果,因其口感酸甜,富含丰富的V_E、V_C、膳食纤维、黄酮和多酚等营养成分^[1-2],且具有降血脂^[3]和抗氧化^[4]功能而深受消费者的喜爱。猕猴桃属于呼吸跃变型水果,采摘后容易软化和腐败变质^[5],因而对猕猴桃进行深加工则显得尤为重要。发酵制作猕猴桃酒不仅可以提高猕猴桃的利用率^[6-7],而且能更好发挥其特有的保健功效^[8],同时提高农产品附加值。作为影响猕猴桃酒风味形成的重要影响因素之一^[9],通过测定有机酸种类和含量可间接对猕猴桃酒品质的优劣进行评价。

目前常采用酸碱滴定法^[10]、离子色谱法^[11]、红外光谱法^[12]和色谱法^[13]对食品中有机酸的种类和含量进行测定。GB5009.157–2016《食品安全国家标准 食品中有机酸的测定》中约束了使用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定食品中的有机酸,相较于其他方法,该方法具有准确、方便和快捷等优点。虽然可以参照GB2758–2012《食品安全国家标准 发酵酒及其配制酒》采用HPLC法测定猕猴桃酒中的有机酸,但上述标准对猕猴桃和猕猴桃酒中的特征酸——奎宁酸^[14]的检测方法并未加以描述,因此对猕猴桃酒中有机酸的测定方法进行优化则显得尤为重要。

本试验采用HPLC对猕猴桃酒中奎宁酸、苹果酸、

乳酸和柠檬酸的测定方法进行了优化,并对10个自酿猕猴桃酒中4种有机酸的含量进行了测定。通过本项目的开展,实现了猕猴桃酒中4种有机酸的快速检测和定量分析,以期为后续猕猴桃酒的生产工艺改良和相关标准的制定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

Lactobacillus plantarum(植物乳杆菌):由湖北文理学院鄂西北传统发酵食品菌种资源库提供;猕猴桃酒:湖北文理学院鄂西北传统发酵食品研究所自酿;奎宁酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸:均为标准品,默克生命科学(上海)有限公司;磷酸氢二铵、磷酸二氢钾、磷酸:均为分析纯,西陇科学股份有限公司;甲醇、乙腈、异丙醇:均为色谱纯,国药集团化学试剂有限公司;偏重亚硫酸钾、果胶酶(5万U/g):均为食品级,烟台帝伯仕自酿机有限公司;0.22 μm一次性针头式过滤器和合成纤维树脂滤膜:上海市新亚净化器件厂。

LC-20ADXR 高效液相色谱仪(配置有LC-20AD XR 四元低压梯度泵、SIL-20A XR 自动进样器、CTO-10AS vp 柱温箱和SPD-M20A 二极管阵列检测器)、InertSustainSwift C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm):日本岛津公司;5810R 台式高速冷冻离心机:德国 Ep-

pendorf公司;PHS-25型pH计:上海仪电科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件的优化

1.2.1.1 有机酸标准溶液配制

准确称取0.6000g奎宁酸、0.6000g苹果酸、3.0000g乳酸和1.2000g柠檬酸标准品,溶解后于50mL容量瓶中定容,配制成不同浓度的有机酸母液待用。

1.2.1.2 供试溶液的配制

吸取各有机酸母液0.50mL于10mL容量瓶中,加入0.20mL的0.10mol/L磷酸溶液后定容,制成混合有机酸的标准供试溶液,取上清液过0.22 μ m针孔滤膜后直接进样。

1.2.1.3 磷酸盐种类的选择

分别配制浓度为0.08mol/L的磷酸氢二铵溶液和磷酸二氢钾流动相,pH值为2.90,进样量为20 μ L,柱温为30 $^{\circ}$ C,流速为1.00mL/min,检测波长为215nm。

1.2.1.4 磷酸盐浓度的选择

分别配制浓度为0.01、0.05、0.08mol/L的磷酸二氢钾流动相,pH值为2.90,进样量为20 μ L,柱温为30 $^{\circ}$ C,流速为1.00mL/min,检测波长为215nm。

1.2.1.5 pH值的选择

配制浓度为0.01mol/L磷酸二氢钾流动相,调节pH值分别为2.90、2.50和2.30,进样量为20 μ L,柱温为30 $^{\circ}$ C,流速为1.00mL/min,检测波长为215nm。

1.2.1.6 有机相的选择

分别设置乙腈和水相的体积比为0:100、5:95和10:90,流动相为0.01mol/L磷酸二氢钾溶液,pH值为2.90,进样量为20 μ L,柱温为30 $^{\circ}$ C,流速为1.00mL/min,检测波长为215nm。

1.2.1.7 流速的选择

分别设置流速为0.05、0.80、1.00、1.20mL/min,流动相为0.01mol/L磷酸二氢钾,pH值为2.90,进样量为20 μ L,柱温为30 $^{\circ}$ C,检测波长为215nm。

1.2.1.8 柱温的选择

分别设置柱温为25、30、35 $^{\circ}$ C,流动相为0.01mol/L磷酸二氢钾,pH值为2.90,进样量为20 μ L,流速为1.00mL/min,检测波长为215nm。

1.2.2 猕猴桃酒中4种有机酸的测定

1.2.2.1 猕猴桃酒的制作

称取成熟猕猴桃洗净打浆,添加4g的偏重亚硫酸钾和0.06%的果胶酶搅拌均匀后调节糖度为22 $^{\circ}$ Brix,接种60g酿酒酵母6h后分装并按 10^7 CFU/mL猕猴

桃酒添加量分别接入10株植物乳杆菌,于22 $^{\circ}$ C发酵7d,再18 $^{\circ}$ C进行后发酵20d后待用,其编号为GJ1~GJ10。

1.2.2.2 标准曲线的制备

分别吸取0.10、0.20、0.50、1.00、2.00mL不同母液于10mL容量瓶,加0.20mL的0.10mol/L磷酸溶液后定容,配制出不同梯度标准品溶液,溶液过0.22 μ m的针孔滤膜待用。分别以4种有机酸的浓度为自变量 x ,峰面积为因变量 y ,采用外标法进行计算。

色谱条件:流动相为0.01mol/L磷酸二氢钾,pH值为2.90;进样量为20 μ L,柱温为30 $^{\circ}$ C,流速为1.00mL/min,检测波长为215nm。

1.2.2.3 猕猴桃酒中4种有机酸含量的测定

吸取2.0mL猕猴桃酒于10mL容量瓶中,加入0.20mL的0.10mol/L磷酸溶液,用0.01mol/L磷酸二氢钾溶液定容。混合均匀后转移至离心管中10000r/min离心15min,取上清液过0.22 μ m针孔滤膜后直接进样,按照1.2.2.2的色谱条件进行4种有机酸含量的测定。

1.2.3 方法性能研究

1.2.3.1 精密性试验

将1.2.1.2中的供试样品溶液连续进样7次,分别对柠檬酸、苹果酸、乳酸和奎宁酸的峰面积进行测定,然后计算其相对标准偏差值(relative standard deviation,RSD)。色谱条件同1.2.2.2。

1.2.3.2 重复性试验

取GJ1样品2mL于10mL容量瓶中,并加入0.20mL的0.01mol/L磷酸溶液,用0.01mol/L磷酸二氢钾定容。混合均匀后转移至离心管中10000r/min离心15min,取上清液过0.22 μ m针孔滤膜待用。按照1.2.2.2的色谱条件对其峰面积进行测定,试验重复操作7次。

1.2.3.3 加标回收率试验

取1.2.3.2中滤液4份,分别编号为GJ11、GJ12、GJ13和GJ14,其中GJ11不做任何处理,GJ12、GJ13和GJ14分别加入不同浓度标准品混合溶液,色谱条件同1.2.2.2。

1.3 统计学分析

使用高效液相色谱工作站自带的LCsolution软件将色谱图另存为数据矩阵后,使用Origin 8.5软件(OriginLab,MA,MSA)作图。使用高效液相色谱工作站自带的LCsolution软件对4种有机酸进行定性和定量分析。采用保留时间对有机酸种类进行定性,采用外标法对有机酸进行定量。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

2.1.1 磷酸盐的选择

磷酸二氢钾和磷酸氢二铵对4种有机酸保留时间及分离效果的影响如图1所示。

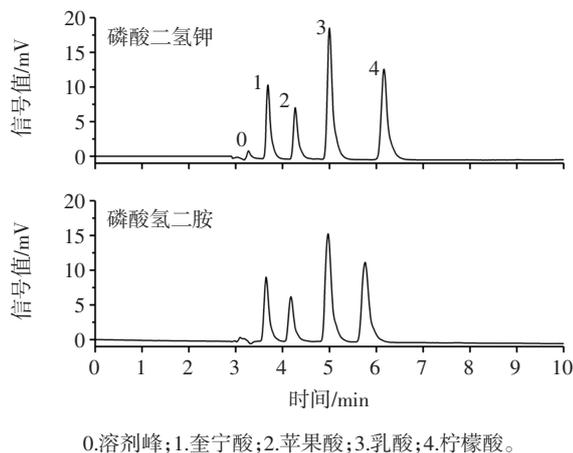


图1 流动相磷酸盐种类对4种有机酸分离效果的影响

Fig.1 Effects of phosphate type of mobile phase on the separation of 4 kinds organic acids

由图1可知,当选择磷酸盐作为流动相时,4种有机酸都能得到较好的分离,且当选择磷酸氢二铵时,各有机酸的保留时间相较于磷酸二氢钾小,检测时间更短。但对比两图可知,以磷酸氢二铵作为流动相时,奎宁酸、乳酸和柠檬酸的峰形相较之磷酸二氢钾差,出现拖尾现象。因此,本研究选择使用磷酸二氢钾作为流动相。

2.1.2 流动相中磷酸盐浓度的选择

浓度为0.01、0.05、0.08 mol/L磷酸二氢钾对4种有机酸保留时间及分离效果的影响如图2所示。

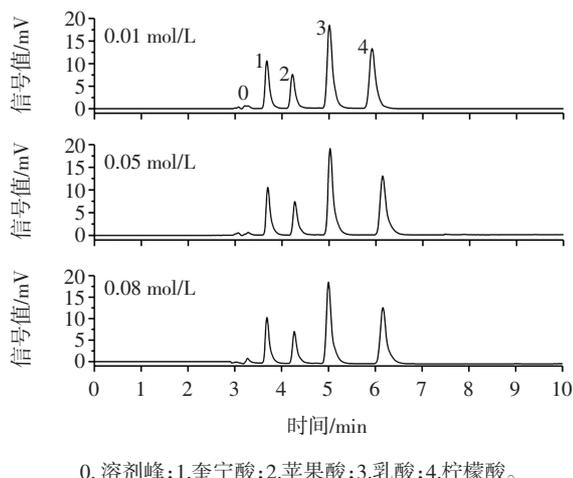


图2 流动相磷酸二氢钾浓度对4种有机酸分离效果的影响

Fig.2 Effects of monopotassium phosphate concentration in mobile phase on the separation of 4 kinds organic acids

由图2可知,磷酸二氢钾的浓度对于4种有机酸的保留时间和峰形均具有一定的影响,对比3个不同磷酸二氢钾浓度的色谱图可知,随着磷酸二氢钾浓度的降低4种有机酸的保留时间也相应的缩短,从而缩短单次分析的时间。同时,观察3号和4号峰可知,随着磷酸二氢钾浓度的升高,3号和4号峰的峰形也越差,且当磷酸二氢钾的浓度为0.08 mol/L时,基线出现下偏。因此,本研究选择0.01 mol/L的磷酸二氢钾溶液作为流动相。

2.1.3 流动相pH值的选择

pH值为2.30、2.50和2.90的磷酸二氢钾流动相对4种有机酸保留时间及分离效果的影响如图3所示。

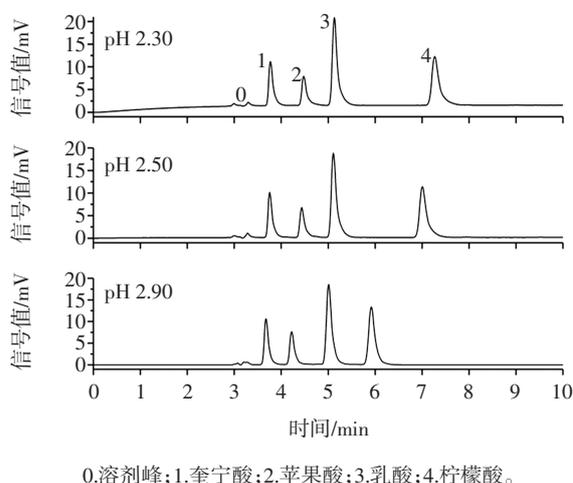


图3 流动相pH值对4种有机酸分离效果的影响

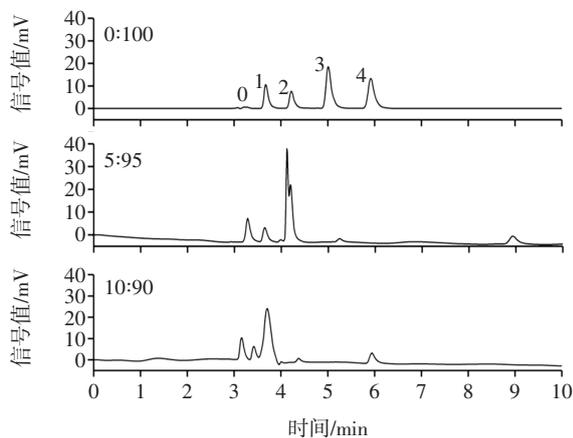
Fig.3 Effect of pH of mobile phase on the separation of 4 kinds organic acids

由图3可知,流动相的pH值对4种有机酸的保留时间和峰形均存在较大的影响,对比不同pH值的色谱图可知,随着pH值的上升4种有机酸的保留时间均有较大的缩短,特别是柠檬酸的保留时间由7.20 min缩短至5.90 min。由图3亦可知,当pH值为2.30时,基线并不稳定,而有向上漂移的趋势;当pH值为2.50时,3号峰和4号峰的分过度大,保留时间相对较长,且对比3个图发现,pH值为2.30和2.50时,均出现不同程度的拖尾现象。因此,本研究选择磷酸盐溶液的pH值为2.90。

2.1.4 流动相中有机相比例的选择

调节乙腈和磷酸盐溶液的体积比分别为0:100、5:95和10:90,研究其对4种有机酸保留时间及分离效果的影响,结果如图4所示。

由图4可知,随着有机相比例的不断增加,4种有机酸的保留时间也不断缩短,且峰形、分离度和响应信号均发生了较大变化。对比3个图可知,当乙腈添



0.溶剂峰;1.奎宁酸;2.苹果酸;3.乳酸;4.柠檬酸。

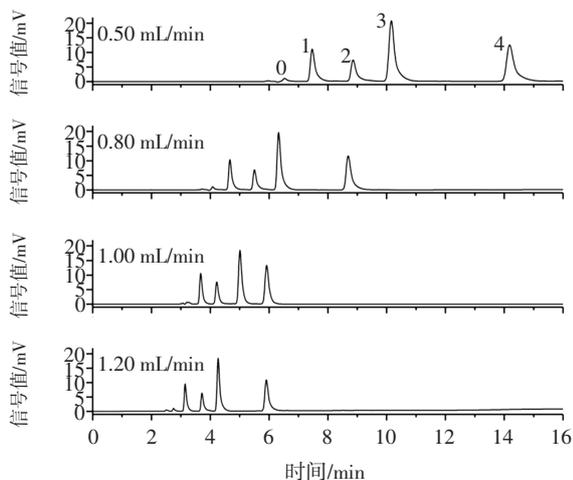
图4 流动相中乙腈比例对4种有机酸分离效果的影响

Fig.4 The effect of acetonitrile percentage in mobile phase on the separation of 4 kinds organic acids

加比例为0时,4种有机酸能达到很好的分离效果;而当乙腈的添加比例为5%或10%时,4种有机酸并不能达到相应的分离效果,且与不添加乙腈相比,添加乙腈以后的检测基线并不稳定且噪音较大。因此,本研究选择不添加乙腈。

2.1.5 流速的选择

流动相流速为0.05、0.80、1.00、1.20 mL/min时对4种有机酸保留时间及分离效果的影响如图5所示。



0.溶剂峰;1.奎宁酸;2.苹果酸;3.乳酸;4.柠檬酸。

图5 流动相流速对4种有机酸分离效果的影响

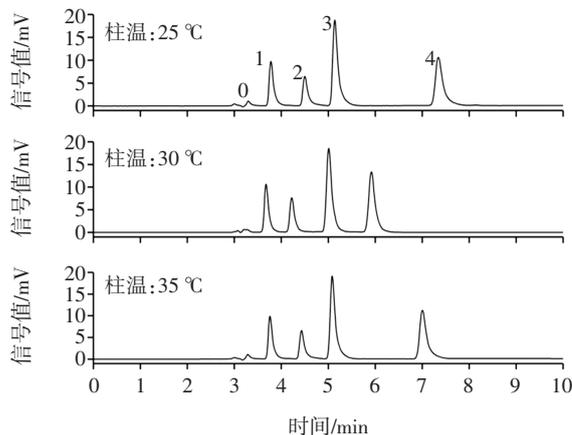
Fig.5 Effect of flow rate of mobile phase on the separation of 4 kinds organic acids

由图5可知,流速对4种有机酸的保留时间的峰形具有较大影响,随着流速的增加,4种有机酸的保留时间会有明显的缩短,值得注意的是,当流速为1.00 mL/min和1.20 mL/min时,柠檬酸的保留时间并没有较大差异。由图5亦可知,随着流速的降低,4种有机酸峰宽

逐渐增加,且出现较为明显的拖尾现象,而对比流速为1.00 mL/min和1.20 mL/min时的色谱图发现,流速为1.20 mL/min时柠檬酸的峰形较差且压力相对较高。因此,本研究选择流速为1.00 mL/min。

2.1.6 柱温的选择

柱温箱的温度为25、30、35℃时对4种有机酸保留时间及分离效果的影响如图6所示。



0.溶剂峰;1.奎宁酸;2.苹果酸;3.乳酸;4.柠檬酸。

图6 柱温对4种有机酸分离效果的影响

Fig.6 Effect of column temperature on the separation of 4 kinds organic acids

由图6可知,柱温对于奎宁酸、苹果酸和乳酸的保留时间并没有较大影响,而对柠檬酸的保留时间影响却较大,当柱温为30℃时,单次分析时间最短。由图6亦可知,当柱温为25℃和35℃,苹果酸、乳酸和柠檬酸的峰形相较于30℃时的峰形差。因此本研究选择柱温为30℃。

2.2 猕猴桃酒中4种有机酸含量的测定

2.2.1 标准回归方程

分别以4种有机酸的浓度为自变量 x ,色谱峰面积为因变量 y 进行标准曲线回归方程的计算,结果如表1。

表1 4种有机酸回归方程

Table 1 Linear regression equations of detection for 4 kinds organic acids

标样	保留时间/min	线性方程	R ²	检出限/(mg/L)
奎宁酸	3.686	$y = 552.491x - 6\ 630.8$	0.999 5	5.30
苹果酸	4.271	$y = 835.502x - 6\ 115.4$	0.999 5	6.60
乳酸	5.001	$y = 491.317x + 12\ 076.2$	0.999 1	4.50
柠檬酸	6.165	$y = 1\ 034.770x - 12\ 284.1$	0.999 8	5.20

由表1可知,4种有机酸的线性回归方程的相关系数均在0.999 0以上,可见各有机酸在浓度范围内

具有良好的线性关系。同时其检出限在 4.50 mg/L~6.60 mg/L 之间,具有较高的精度,可以满足试验要求。

2.2.2 猕猴桃酒中 4 种有机酸含量的测定

使用 HPLC 法对 10 个猕猴桃酒样品中 4 种有机酸测定的结果如表 2 所示。

表 2 HPLC 法测定猕猴桃酒中 4 种有机酸含量(n=10)

Table 2 Contents of 4 kinds organic acids in 10 kiwifruit wine samples (n=10)

编号	奎宁酸/ (mg/mL)	苹果酸/ (mg/mL)	乳酸/ (mg/mL)	柠檬酸/ (mg/mL)
GJ1	7.90	7.21	0.89	4.72
GJ2	7.90	7.21	0.89	4.72
GJ3	7.83	7.22	0.94	4.53
GJ4	7.88	7.17	0.88	4.55
GJ5	7.91	7.24	0.92	4.55
GJ6	8.59	7.66	0.87	6.09
GJ7	8.45	7.56	0.86	6.01
GJ8	8.55	7.62	0.84	6.01
GJ9	8.60	7.66	0.84	5.94
GJ10	8.45	7.62	0.85	5.97

由表 2 可知,10 种猕猴桃酒中均检测出奎宁酸、苹果酸、乳酸和柠檬酸,其含量范围分别为 7.83 mg/mL~8.60 mg/mL、7.17 mg/mL~7.66 mg/mL、0.84 mg/mL~0.94 mg/mL 和 4.53 mg/mL~6.09 mg/mL。由此可见,奎宁酸、苹果酸和柠檬酸为猕猴桃酒中的主要有机酸。

2.3 方法性能研究

2.3.1 精密性试验结果

将 1.2.1.2 中的供试样品溶液连续进样 7 次,分别对 4 种有机酸的峰面积进行测定,然后计算其相对标准偏差值(relative standard deviation, RSD),精密度试验结果如表 3 所示。

由表 3 可知,奎宁酸、苹果酸、乳酸和柠檬酸的相对标准偏差值均在 0.10 % 以下,因而使用本研究优化的色谱条件测定猕猴桃酒中 4 种有机酸时具有良好的精密性。

2.3.2 重复性试验结果

按照 1.2.2.2 中的色谱条件对 GJ1 猕猴桃果酒中各有机酸含量进行测定,试验重复操作 7 次,计算 4 种有机酸峰面积的 RSD,重复性试验结果如表 4 所示。

表 3 精密度试验结果

Table 3 Precision experiment results

待测组分	峰面积							平均值	RSD/%
奎宁酸	328 351	327 671	327 915	327 910	327 637	327 548	327 956	327 855	0.08
苹果酸	249 608	249 522	249 413	249 358	249 419	249 683	249 545	249 507	0.05
乳酸	759 751	760 338	760 450	760 583	761 220	760 320	760 548	760 459	0.06
柠檬酸	612 475	612 535	612 225	612 500	612 648	612 532	612 496	612 487	0.02

表 4 重复性试验结果

Table 4 Repetitive test results

待测组分	峰面积							平均值	RSD/%
奎宁酸	869 534	871 689	868 828	866 044	864 169	863 215	864 576	866 865	0.37
苹果酸	143 202	143 599	144 102	143 286	142 828	143 329	142 936	143 326	0.30
乳酸	4588 23	464 726	462 870	459 789	458 308	457 326	462 832	460 668	0.61
柠檬酸	1 466 751	1 478 963	1 475 729	1 467 722	1 454 685	1 468 534	1 467 538	1 468 560	0.53

由表 4 可知,奎宁酸、苹果酸、乳酸和柠檬酸的相对标准偏差值均在 1.00 % 以下,因而使用本研究优化的色谱条件测定猕猴桃酒中 4 种有机酸时具有良好的重复性。

2.3.3 加标回收试验结果

参照 1.2.2.2 中的色谱条件进行加标回收率试验,其结果如表 5 所示。

由表 5 可知,奎宁酸、苹果酸、乳酸和柠檬酸其平均回收率分别为 100.19 %、99.64 %、99.25 % 和 99.67 %,

表 5 加标回收率试验结果

Table 5 Spiking recovery test results

待测组分	含量/ (mg/mL)	加标量/ (mg/mL)	理论值/ (mg/mL)	实际值/ (mg/mL)	回收率/ %	平均回 收率/%
奎宁酸	0.79	0.25	1.04	1.06	101.56	100.19
	0.79	0.75	1.54	1.54	99.53	
	0.79	1.50	2.29	2.28	99.48	
苹果酸	0.09	0.03	0.12	0.12	101.43	99.64
	0.09	0.09	0.18	0.18	98.88	
	0.09	0.18	0.27	0.27	98.61	

续表 5 加标回收率试验结果
Continue table 5 Spiking recovery test results

待测组分	含量/ (mg/mL)	加标量/ (mg/mL)	理论值/ (mg/mL)	实际值/ (mg/mL)	回收率/ %	平均回 收率/%
乳酸	0.46	0.15	0.61	0.61	99.36	
	0.46	0.45	0.91	0.90	98.66	99.25
	0.46	0.90	1.36	1.36	99.72	
柠檬酸	0.72	0.25	0.97	0.95	98.25	
	0.72	0.75	1.47	1.49	101.24	99.67
	0.72	1.50	2.22	2.21	99.50	

因而使用本研究优化的色谱条件测定猕猴桃酒中4种有机酸时可以很好的满足试验要求。

3 结论

本研究建立了反相高效液相色谱法快速测定猕猴桃酒中奎宁酸、苹果酸、乳酸和柠檬酸的方法,流动相为 0.01 mol/L 磷酸二氢钾, pH 值 2.90, 色谱柱为 InertSustainSwift C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流速为 1.00 mL/min, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μL, 检测波长为 215 nm, 采用该方法分析发现, 奎宁酸、苹果酸和柠檬酸为猕猴桃酒中的主要有机酸。

参考文献:

- [1] 郝瑶, 王陶, 李文, 等. 富硒猕猴桃酒酵母的筛选及鉴定[J]. 食品科学, 2014, 35(21): 175-179
- [2] 李国秀, 刘小宁, 李劫. 高效液相色谱法测定猕猴桃中的 V_C 含量[J]. 保鲜与加工, 2016, 16(5): 89-93
- [3] Recio-Rodríguez J I, Gomez-Marcos M A, Patino-Alonso M C, et

- al. Effects of kiwi consumption on plasma lipids, fibrinogen and insulin resistance in the context of a normal diet[J]. Nutrition Journal, 2015, 14(1): 97-105
- [4] 王金华, 杜超, 梁晨, 等. 贵长猕猴桃多糖提取工艺及体外抗氧化功能[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 19-23
- [5] 龙明秀, 王辉, 蒋纬, 等. 固载 ClO₂ 保鲜剂对米良猕猴桃腐败菌的抑菌活性[J]. 食品工业科技, 2016, 37(4): 342-346
- [6] 姜爱丽, 白雪, 杨柳, 等. 软枣猕猴桃加工与保鲜研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(14): 375-378
- [7] 韩丹, 吴铭, 汪鸿, 等. 软枣猕猴桃酒发酵工艺优化[J]. 中国酿造, 2016, 35(1): 145-148
- [8] 党花利, 秦秀丽. 蛹虫草—猕猴桃保健饮料工艺研究[J]. 食用菌, 2014, 36(5): 58-60
- [9] Antoine S, Pailly O, Gibon Y, et al. Short- and long-term effects of carbohydrate limitation on sugar and organic acid accumulation during mandarin fruit growth[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(11): 3906-3914
- [10] 王雅铮, 侯佳慧, 张萍, 等. 酸碱滴定法测定食醋总酸量 3 种终点指示方法比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(2): 146-148
- [11] Fan C, Li N, Cao X. Determination of chlorophenols in honey samples using in-situ ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction as a pretreatment method followed by high-performance liquid chromatography[J]. Food Chemistry, 2015, 174(8): 446-451
- [12] de Oliveira G A, de Castilhos F, Renard C M G C, et al. Comparison of NIR and MIR spectroscopic methods for determination of individual sugars, organic acids and carotenoids in passion fruit[J]. Food Research International, 2014, 60(6): 154-162
- [13] 魏铭, 顾盼, 李程洁, 等. 高效液相色谱法测定笃斯越桔制品中 7 种有机酸的含量[J]. 中国酿造, 2014, 33(11): 145-148
- [14] 王刚, 王涛, 潘德林, 等. 不同品种猕猴桃果实有机酸组分及含量分析[J]. 农学学报, 2017, 7(12): 81-84

收稿日期: 2018-07-16