

采用高效液相色谱法测定红葡萄酒中的柠檬酸

应用简讯

食品检测与农业

作者

吴翠玲、张聪聪

安捷伦科技（中国）有限公司

前言

柠檬酸的含量对食品的味道有很大影响，并且是某些食品品质的一项重要检测指标，例如其作为酸度调节剂在葡萄酒中的应用。在葡萄酒的酿造过程中，添加的柠檬酸可以帮助 SO_2 防止葡萄酒变质、起抑菌作用、维持和稳定红葡萄酒的颜色。有人认为柠檬酸是安全无毒的，其实不然，经过多次实验证明，2.15 g/kg 的柠檬酸对小鼠的体重有明显影响，毒理实验也证实了柠檬酸对受试小鼠的肝脏有影响。GB 15037-2006 规定干、半干和半甜葡萄酒中柠檬酸的含量小于等于 1 g/L，甜葡萄酒中柠檬酸的含量小于等于 2 g/L。

本文所述方法参照国标 GB/T 15038-2006 和进出口行业标准 SN/T 2007-2007 方法，建立了一种分析红酒中柠檬酸的高效液相分析方法。该方法使用 Agilent Poroshell 120 SB-AQ 极性改性反相色谱柱，可以长时间耐受 100% 水相流动相，并且在普通仪器上即可实现快速高效的分离，整个运行仅需 6 min，系统压力在 150 bar 以下。

柠檬酸分析

对样品进行前处理，取 1 g 红葡萄酒样品，用水涡旋稀释，定容到 10 mL，取适量样品，过 Agilent Captiva 优级 0.2 μm RC 过滤膜。使用配备了 Agilent Poroshell 120 快速分析色谱柱的高效液相色谱系统对其进行分析，表 1 所示为液相色谱分析条件。



Agilent Technologies

表 1. 液相色谱分析条件

液相色谱:	Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统 – 二极管阵列检测器 (HPLC-DAD)	
色谱柱:	Agilent Poroshell 120 SB-AQ, 4.6 × 100 mm, 2.7 μm, 部件号 685975-914	
流速:	1 mL/min	
柱温:	40 °C	
进样体积:	10 μL	
流动相 A:	0.02 mol/L 的磷酸二氢钾水溶液, pH 2.4	
流动相 B:	甲醇	
梯度洗脱:	时间 (min)	B (%)
	0	0
	3	0
	3.5	80
	6	80
	6.5	0
	10	0
检测波长:	210 nm	

本文所述方法适用于分析红葡萄酒中的柠檬酸，使用 Poroshell 120 快速分析色谱柱，6 min 即可完成一次样品分析，见图 1、2、3；0.1 mg/mL 柠檬酸标准溶液连续进样六次，所得色谱峰的峰面积 RSD < 0.6%，证明系统具有很好的稳定性，见图 4；柠檬酸在 0.05-1 mg/L 浓度范围内具有良好的线性，见图 5。

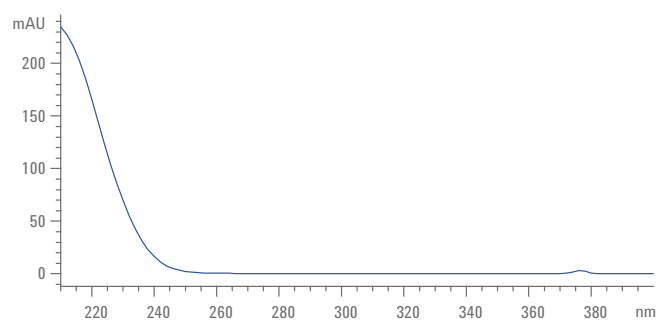
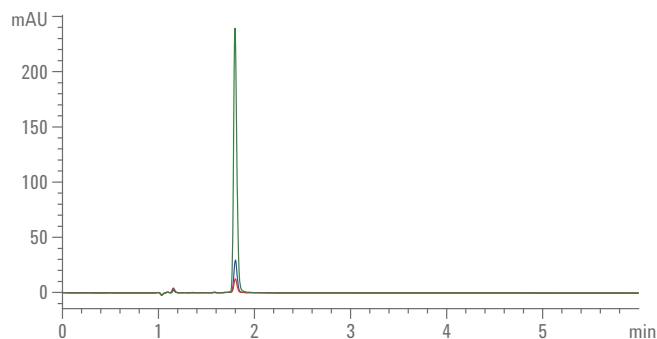


图 1. 三个浓度点 (0.5、0.1、1.0 mg/mL) 的柠檬酸标准溶液的色谱图 (上) 和光谱图 (下)

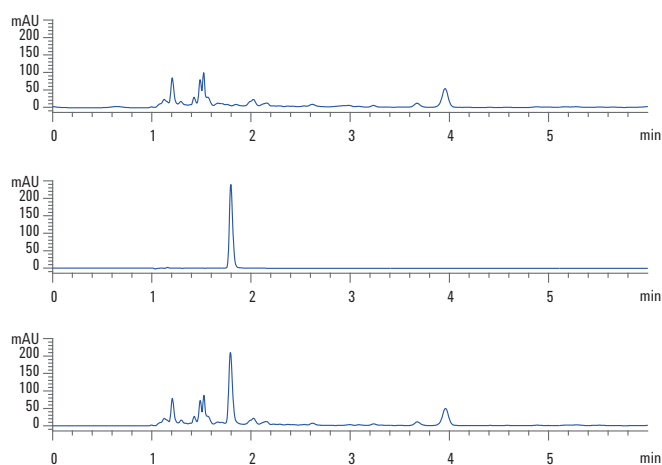


图 2. 红葡萄酒空白基质样品 (上)、1 mg/mL 柠檬酸标准样品 (中), 10 mg/mL 红葡萄酒加标样品 (下) 的色谱图

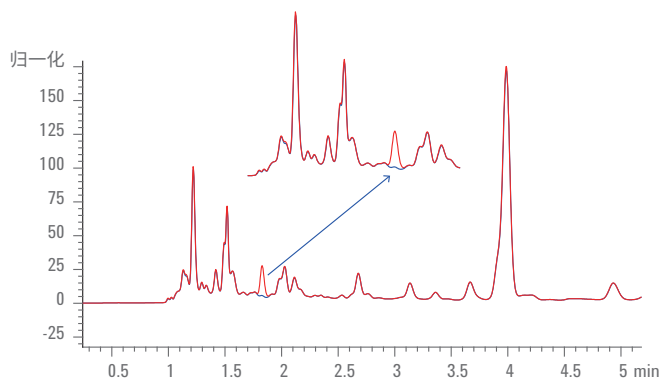


图 3. 红葡萄空白基质样品（蓝色）和 1 mg/mL 红葡萄酒加标样品（红色）的重叠色谱图

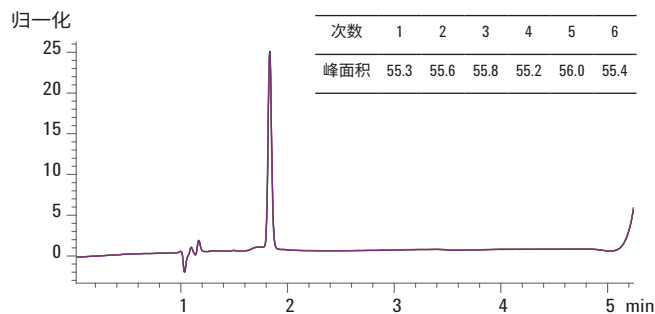


图 4. 0.1 mg/mL 柠檬酸标准溶液重复进样所得色谱叠加图和峰面积 (n=6, RSD% = 0.55)

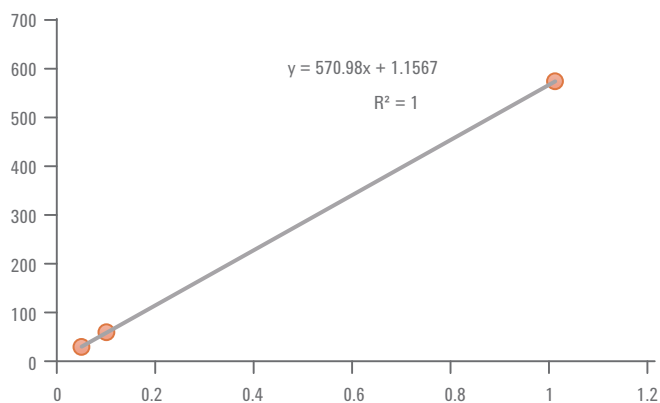


图 5. 柠檬酸标准溶液校正曲线

本文所采用的 Poroshell 120 SB-AQ 柱为表面多孔性硅胶极性修饰反相固定相，可长时间耐受 100% 水相流动相。由图 2、6、7 可以看出，色谱图中柠檬酸出峰位置无杂质峰干

扰，有效实现了红葡萄酒样品经稀释、萃取、简单过膜处理后的基质干扰和目标分析物的良好分离，并且具有快速分离分析的效果。如表 2 所表，在 10 mg/mL、1.0 mg/mL、0.5 mg/mL 三个不同浓度添加水平下，柠檬酸的平均添加回收率均在 88% 以上 (n=3)。

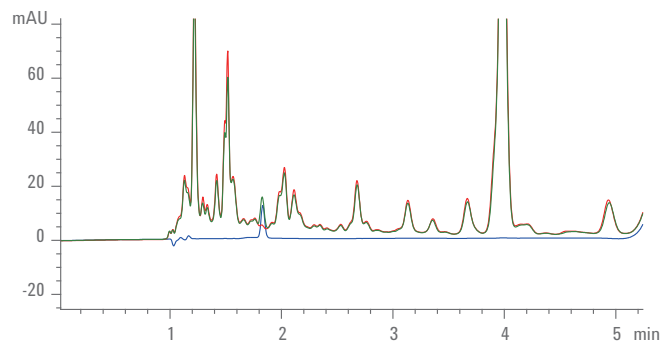


图 6. 红葡萄空白基质样品（红色）、0.05 mg/mL 柠檬酸标准溶液（蓝色）、0.5 mg/mL 红葡萄酒加标样品（绿色）的重叠色谱图

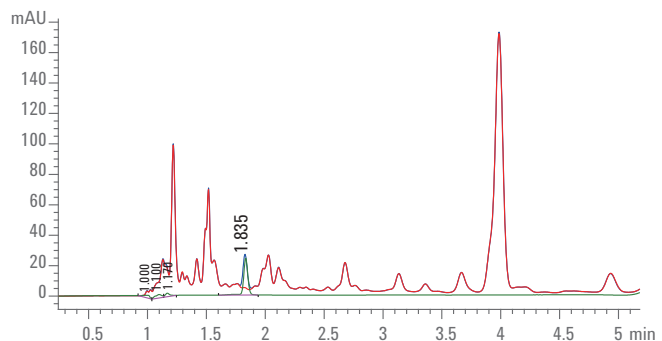


图 7. 红葡萄空白基质样品（红色）、0.1 mg/mL 柠檬酸标准溶液（绿色）、1 mg/mL 红葡萄酒加标样品（蓝色）的重叠色谱图

表 2. 柠檬酸的平均添加回收率 (n=3)

添加浓度	0.5 mg/L	1.0 mg/L	10.0 mg/L
平均回收率	88.9%	89.0%	91.2%

消耗品订购信息

液相色谱柱：Poroshell 120 SB-AQ, 4.6 × 100 mm, 2.7 μm, 部件号 685975-914

针头过滤器：Captiva 优级过滤膜 PES, 0.2 μm, 部件号 5190-5096

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2017

2017年10月22日，中国印刷

5991-8631ZH-CN



Agilent Technologies