

一种检测红葡萄酒中掺加黑米色素的方法研究

张军翔

宁夏大学农学院, 银川 750021

[摘要] 利用 HPLC 方法对市售的“黑米红”色素的花色苷进行分离并鉴别其主要成分;对掺加了“黑米红”的葡萄酒进行分析检测,以建立一种检测红葡萄酒添加黑米色素的方法。该方法简便、直观、准确,具有很好的实用性。

[关键词] 红葡萄酒;黑米色素;检测;添加

[中图分类号] S633.1, TS261.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2007)14-0046-03

A Method for the Detection of Red Wine Adulteration with Blackrice Pigment

ZHANG Junxiang

Agricultural College, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

Abstract: The main anthocyanin of Blackrice pigments was analysed by HPLC, and the method of detection of red wine adulteration with Blackrice pigments was established. HPLC analysis: Chromatographic condition was RP-C18 column, pH 1.6 in mobilephases, binary solvent delivery gradient elution, and UV-Vis detection was used at 518 nm. The result showed the main anthocyanin of Blackrice pigments was Cyanindin-3-glucoside. An enhanced peak from additional Cyanindin-3-glucoside was found in red wine adulteration with Blackrice pigments, due to Cyanindin-3-glucoside from Blackrice pigments, and wine adulteration with Blackrice pigment could be detected using this peak. This detecting method is simple, accurate, illustrative, and with high practicability.

Key Words: red wine; Blackrice pigment; detection; adulteration

CLC Numbers: S633.1, TS261.7

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2007)14-0046-03

黑稻的种皮内富含花色苷类物质,通过一定的工艺可以有效地提取出黑米中的天然色素,黑米色素在低 pH 值下呈红色或紫色。国内现已开发的有黑米黑、黑米红、红米红(商品名)等天然食用色素,目前黑米色素在食品医药加工和化妆行业应用广泛^[1]。关于黑米色素的花色苷的构成,曹小勇和李新生^[2]综述了国外的研究,认为黑米色素主要以花青素葡萄糖苷(Cyanindin-3-glucoside)和翠雀素葡萄糖苷(Delphinidin-3-glucoside)占主导,并且可能存在甲基花青素葡萄糖苷(Peonidin-3-glucoside)和锦葵色素葡萄糖苷(Malvidin-3-glycoside),及其他色素衍生物和聚合物。

目前,一些厂家普遍采取在葡萄酒中添加黑米色素的方法,以提高葡萄酒的颜色和外观品质。虽然黑米色素中具有一定量的营养保健物质^[3],且国家有关规定食品中

允许添加色素,但在劣质甚至掺水的葡萄酒中添加色素以提高其感官质量,无疑是一种假冒和欺诈行为。欧阳燕玲等利用 HPLC 方法对添加人工色素的葡萄酒进行了鉴别^[4],为添加黑米色素葡萄酒的检测提供了方法依据。

本文使用 HPLC 方法对市售的“黑米红”花色苷进行分离并鉴别其主要成分;对添加“黑米红”的葡萄酒使用相同的方法进行分析检测,以建立一种检测红葡萄酒中掺加黑米色素的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

宁夏贺兰山东麓地区蛇龙珠葡萄酒,未进行苹果酸-乳酸发酵;市售“黑米红”色素。

分析前取样品 100 mL,经过 800 mg·L⁻¹ 皂土和

收稿日期:2007-06-08

基金项目:2006 年宁夏回族自治区科技攻关项目;宁夏自然科学基金项目(NZ0705)

作者简介:张军翔,银川市西夏区贺兰山西路 489 号宁夏大学农学院,副教授,研究方向为葡萄、葡萄酒;E-mail: zhangjunxiang@126.com

80 mg·L⁻¹ 明胶下胶澄清处理 24 h, 取清液, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

1.2 试验方法

1.2.1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), 真空脱气装置, 自动进样装置, VWD 紫外检测仪, 真空抽滤机。

乙腈为色谱纯, KH₂PO₄ 和磷酸为分析纯。

1.2.2 HPLC 分析

20RBAX SB-C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱。参考并改进了 Berente 的方法^[5]。检测波长 518 nm; 流动相: A 液为乙腈-磷酸缓冲液(v/v=5/95); B 液为乙腈-磷酸缓冲液(v/v=50/50)。磷酸缓冲液的配制: 10 mmol·L⁻¹ 的 KH₂PO₄ 用磷酸调 pH=1.6。配制用水为重蒸两遍蒸馏水。洗脱梯度: B 液: 0 min 时为 10%; 0~30 min 时达到 45%; 30~31 min 时为 45%~100%; 31~34 min 时保持 100%; 34~35 min 时 100% 到 10%, 保持 5 min。柱温 50℃, 进样体积 20 μL。

1.2.3 仪器的精密度和试验的重复性检验

取同一批葡萄酒样品, 连续进样 5 次。考察主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的一致性, 并计算各自的相对标准差(RSD), 检验仪器的精密密度。

取同一样品原酒分 5 份, 按 1.1 节方法处理样品, 分别进样, 考察主要色谱的相对保留时间和相对峰面积的一致性, 并计算各自的相对标准差(RSD), 检验试验的重复性。色谱峰相对保留时间和相对峰面积参照文献方法^[6]求出。

2 结果与分析

2.1 仪器精密度和试验的重复性检验结果

图 1 是蛇龙珠葡萄酒的 HPLC 图谱, 参考峰(S)选择保留时间居中、面积较大的峰。本研究选择保留时间为 12.90±0.12 min 的色谱峰, 即 5 号峰为参考峰计算相对保留时间和相对峰面积。按 1.2.3 节方法, 利用蛇龙珠葡萄酒样品检验仪器的精密密度, 主要色谱峰相对保留时间相对标准偏差的 RSD (Relative Standard Deviation) 均小于 1%, 相对峰面积的 RSD 均小于 2.0%, 说明仪器具有很好的精密密度。按 1.2.4 节方法, 利用蛇龙珠葡萄酒样品对试验方法进行重复性检验, 主要色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 1%, 相对峰面积 RSD 均小于 3.0%, 说明试验方法具有很好的重复性。

2.2 葡萄酒中花色苷的分离和构成

笔者曾对图 1 的 14 个花青素 HPLC 色谱峰进行了鉴定^[7], 其中有翠雀素葡萄糖苷(Delphinidin-3-glucoside)等, 乙酰基类花青素和聚合类色素。

2.3 黑米色素花色苷的分离及构成

将市售“黑米红”色素用重蒸水稀释 100 倍, 进行

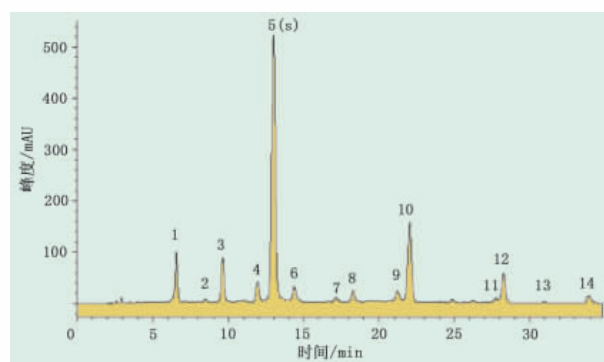


图 1 蛇龙珠葡萄酒花色苷花青素的 HPLC 图谱

Fig. 1 Anthocyanins HPLC print of Cabernet Gernische wine

HPLC 分析。图 2 是黑米色素 HPLC 图谱。可以看到, 黑米色素只有两个主要的色谱峰, 保留时间分别为 8.20 s 和 33.85 s, 其中前一个峰最强, 相对面积达到 91%。对照蛇龙珠花青素 HPLC 图谱(图 1), 对黑米色素花色苷进行鉴定, 初步断定黑米色素的两个花色苷分别对应于蛇龙珠花色苷 HPLC 的 2 号峰和 14 号峰, 即为花青素葡萄糖苷和聚合色素。

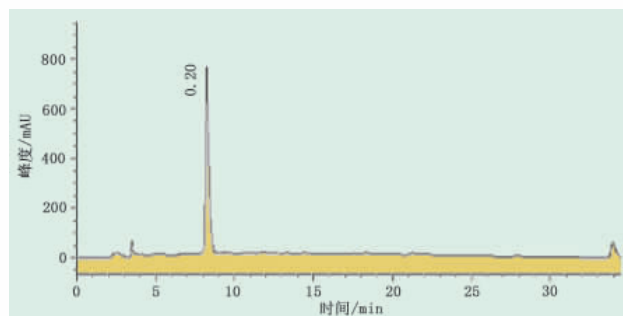


图 2 黑米色素花色苷的 HPLC 图谱

Fig. 2 Anthocyanins HPLC print of Blackrice pigment

2.4 掺有黑米色素的葡萄酒花色苷分离、构成及鉴别

将蛇龙珠葡萄酒稀释 1 倍后加入稀释 100 倍的“黑米红”色素(达到基本相同的外观颜色), 进行 HPLC 分析。图 3 是掺有黑米色素的葡萄酒的花色苷 HPLC 图

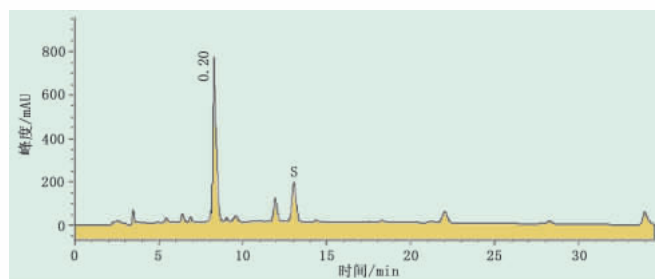


图 3 掺黑米色素的蛇龙珠葡萄酒的花青素 HPLC 图谱

Fig. 3 Anthocyanins HPLC print of Cabernet Gernische wine Adulteration with Blackrice pigment

谱。可以看到,保留时间为 8.28 s 的色谱峰在葡萄酒中明显增强,成为最强峰,说明此峰来自于黑米色素。根据参考峰(S)计算对照相对保留时间,此峰相对保留时间为 0.64 s,与 2 号峰相对保留时间相同,也进一步证实了此峰为花青素葡萄糖苷。在欧洲出产的葡萄酒中,花青素葡萄糖苷含量较低(一般小于 1%),花色苷以黑米色素为主,添加黑米色素的葡萄酒中花青素葡萄糖苷明显提高,表现在图谱上 2 号峰显著增强,因此添加了黑米色素的葡萄酒能够很容易被鉴别出来。

3 讨论

3.1 黑米色素的分离及鉴别

分离鉴别花色苷的主要方法有纸层析法、毛细管电泳法、HPLC 法、HPLC-MS 法等。其中,HPLC 方法已被广泛地应用于化学成分分析。在本试验条件下,葡萄酒色谱峰较多,分离效果较好,说明试验方法对花色苷具有很好的分离效果,对黑米色素花色苷也进行了有效的分离。本文采用在葡萄酒中添加黑米色素,以“内标法”模式鉴别了黑米色素的主要花色苷。一些研究^[2]认为黑米色素花色苷种类较多,但本文研究结果表明黑米色素花色苷的主要成分比较单一,主要是花青素葡萄糖苷,这也可能与黑米的品种和提取的工艺有关^[8]。本文中发现黑米色素含有一定量的聚合色素,但未能很好地分离,因为聚合色素含量受样品生产、存放的时间影响^[7],不能说明色素本身的花色苷主要成分。

3.2 掺加色素葡萄酒的鉴别方法

许多天然色素具有与葡萄酒中色素相同的性质,所以通过一般的化学方法很难对葡萄酒中添加的天然色素进行检测。Bridle 和 Garcia-Viguera^[9]利用 HPLC 分离了接骨木果实中大量存在而在欧洲酿造的葡萄酒中不存在的花色苷,鉴别了掺假葡萄酒。天然色素中存在大量的花色苷成分,而在葡萄酒中不存在或少量存在,利用这一特点,可以准确、简便地对添加了色素的葡萄酒进行区分鉴别。本文利用在葡萄酒中含量较低、而在黑米色素中大量存在花色苷的这一特点,对掺假色素葡萄酒进行了鉴别,取得了很好的鉴别效果,实验证明该方法可行、准确。

4 结论

本文利用 HPLC 方法有效地分离了黑米色素的花色苷,利用“内标法”对其进行了鉴定。黑米色素最主要的花色苷是花青素葡萄糖苷。

本文利用 HPLC 对掺加黑米色素的葡萄酒花色苷进行了分析,由于花色苷在黑米色素中大量存在、而在葡萄酒中含量较低,从而表现出花青素葡萄糖苷色谱峰的差异,可以直观、简便地检测出葡萄酒中是否掺加了黑米色素。

参考文献 (References)

- [1] 王立,王领军,姚惠源,等. 黑米及黑米色素的加工与利用[J]. 粮食与饲料工业, 2004, 6: 11-13, 20.
WANG Li, WANG Lingjun, YAO Huiyuan, *et al.* Processing and utilization of black rice and black rice pigment[J]. Cereal and feed industry, 2004, 6: 11-13, 20.
- [2] 曹小勇,李新生. 黑米花色苷类色素研究现状及展望[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(1): 3-6.
CAO Xiaoyong, LI Xinsheng. Investigations of anthocyanins of black rice and their prospect [J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2002, 24(1): 3-6.
- [3] 王丽华,叶小英,李杰勤,等. 黑米红米的营养保健功效及其色素遗传机制的研究进展[J]. 种子, 2006,25(5): 50-54.
WANG Lihua, YE Xiaoying, LI Jieqin, *et al.* Processing of black rice nourishment efficacy and pigment heredity mechanism[J]. Seed, 2006, 25(5): 50-54.
- [4] 欧阳燕玲,谢维平,陈春祝. 高效液相色谱法检测葡萄酒中 5 种人工合成色素方法的探讨 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(10): 1218-1219.
OUYANG Yanling, XIE Weiping, CHEN Chunzhu. Discussion of checking five false pigments by HPLC method[J]. Chinese J Health Laboratory Tec, 2005, 15 (10): 1218-1219.
- [5] BERENTE B, De la CALLE GARCA D, REICHENBACHER M, *et al.* Method development for the determination of anthocyanins in red wines by high-performance liquid chromatography and classification of German red wines by means of multivariate statistical methods[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 871: 95-103.
- [6] 曾志,杨东晖,宋力飞,等. 高效液相色谱指纹图谱应用于板蓝根的鉴定[J]. 分析化学, 2002, 30: 849-852.
ZENG Zhi, YANG Donghui, SONG Lifei, *et al.* The identification of isatis indigotica fort by high performance liquid chromatographic fingerprint[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2002, 30: 849-852.
- [7] 张军翔,冯长根,李华. 蛇龙珠葡萄酒酒龄花青素高效液相色谱(HPLC)指纹图谱研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(7): 1451-1456.
ZHANG Junxiang, FENG Changgen, LI Hua. Identification of cabernet gernische wine age by high-performance liquid chromatography anthocyanins fingerprint[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(7): 1451-1456.
- [8] 吴三桥,史隋孝,丁锐,等. 黑米中花青苷色素的测定方法研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(3): 66-68.
WU Sanqiao, SHI Suixiao, DING Rui, *et al.* Study on determination method of anthocyanin of black rice[J]. Amino Acid and Biotic Resource, 2002, 24(3): 66-68.
- [9] BRIDLE P, GARCIA-VIGUERA C. A simple technique for the detection of red wine adulteration with elderberry pigments [J]. Food Chemistry 1996, 55(2): 111-113.

(责任编辑 王士泉)