DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260205005
引用格式: 黄荻舒, 陈高健, 郑燕, 等. 高效液相色谱法同时测定青梅酒中 11 种有机酸的含量及其化学模式识别分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(13): 193–201.
Huang Dishu, Chen Gaojian, Zheng Yan, et al. Simultaneous determination of 11 kinds of organic acids in green plum wine by high performance liquid chromatography and its chemical pattern recognition analysis [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(13): 193–201. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱法同时测定青梅酒中 11 种有机酸的含量及其化学模式识别分析

黄荻舒[1], 陈高健[1], 郑　燕[1], 叶有芳[1], 李爱平[2], 汤丽昌[1*], 何锦锋[1*], 冯俊富[1], 朱飞如[1]
(1. 北海市公共检验检测中心, 北海　536000; 2. 桂林义江酒业有限公司, 桂林　541000)

摘　要: 目的　建立高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)同时测定青梅酒中 11 种有机酸[柠檬酸、*D*-(+)苹果酸、*L*-(+)酒石酸、琥珀酸、马来酸、*L*-(+)乳酸、乙酸、单宁酸、富马酸、没食子酸、香豆酸]的含量, 并进行化学模式识别分析。**方法**　HPLC 分析采用 CAPECELL PAK ADME C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱, 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为 0.1%磷酸水溶液(*V*:*V*), 进行梯度洗脱, 柱温 30 ℃, 检测波长为 210 nm; 测得结果再利用 SPSS 25.0 和 SIMCA 14.1 软件进行化学模式识别分析。**结果**　11 种有机酸在各自质量浓度范围内线性关系良好($r \geqslant 0.9993$), 平均加标回收率 92.69%~104.35%, 相对标准偏差为 0.29%~4.72%, 9 批次样品测定结果聚类分析结果显示当欧氏距离为 5 时可分为 3 类; 主成分分析法提取了 3 大主成分, 与聚类分析结果一致, 第 1 大主成分包括 *L*-(+)酒石酸、*D*-(+)苹果酸、单宁酸、柠檬酸、琥珀酸、富马酸, 第 2 大主成分是乙酸和没食子酸, 第 3 大主成分为 *L*-(+)乳酸、马来酸和香豆酸; 正交偏最小二乘法-判别分析得出柠檬酸、*D*-(+)苹果酸为潜在有机酸风味质量差异标志物。**结论**　该含量测定方法结合化学模式识别分析操作简捷、精确灵敏, 对青梅酒及其他食品中有机酸的定性定量分析与评价适用性科学高效。

关键词: 青梅酒; 高效液相色谱法; 有机酸; 化学模式识别
中图分类号: TS57　　**文献识别码:** A　　**文章编号:** 2095–0381(2026)13–0193–09

Simultaneous determination of 11 kinds of organic acids in green plum wine by high performance liquid chromatography and its chemical pattern recognition analysis

HUANG Di-Shu[1], CHEN Gao-Jian[1], ZHENG Yan[1], YE You-Fang[1], LI Ai-Ping[2], TANG Li-Chang[1*], HE Jin-Feng[1*], FENG Jun-Fu[1], ZHU Fei-Ru[1]
(1. *Beihai Public Inspection and Testing Centre*, *Beihai* 536000, *China*; 2. *Guilin Yijiang Jiuye*, *Co*., *Ltd*., *Guilin* 541000, *China*)

收稿日期: 2026-02-05
基金项目: 广西科技重点研发计划项目(桂科 AB25069003); 广西壮族自治区市场局自筹课题项目(GSJKJZC2025-16)
第一作者: 黄荻舒(1991—), 女, 主管药师, 主要研究方向为食品、药品质量控制及方法研究开发。E-mail: 632800812@qq.com
***通信作者:** 汤丽昌(1986—), 男, 副主任药师, 主要研究方向为食品、药品质量控制及方法研究开发。E-mail: 363471255@qq.com
何锦锋(1969—), 男, 正高级工程师, 主要研究方向为工业检测及质量分级研究及管理工作。E-mail: 3307593931@qq.com

ABSTRACT: Objective To determine the content of 11 kinds of organic acids (citric acid, malic acid, tartaric acid, succinic acid, maleic acid, lactic acid, acetic acid, tannic acid, fumaric acid, gallic acid and coumaric acid) in green plum wine by high performance liquid chromatography (HPLC) and the chemical pattern recognition analysis is performed. **Methods** The analysis was performed using HPLC with a CAPECELL PAK ADME C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column, where mobile phase A was methanol and mobile phase B was a 0.1% (*V*:*V*) aqueous phosphoric acid solution. Gradient elution was employed at a column temperature of 30 ℃, with a detection wavelength of 210 nm. The results were subsequently analyzed using chemopattern recognition software, specifically SPSS 25.0 and SIMCA 14.1. **Results** The 11 kinds of organic acids exhibited excellent linearity ($r \geqslant 0.9993$) within their respective mass concentration ranges, with average addition recovery ranging from 92.69% to 104.35% and relative standard deviations of 0.29% to 4.72%. Cluster analysis of 9 batchs samples revealed 3 distinct groups when Euclidean distance was set to 5. Principal component analysis identified 3 major components, consistent with cluster results: the first principal component included tartaric acid, malic acid, tannic acid, citric acid, succinic acid and fumaric acid; the second principal component comprised acetic acid and gallic acid; while the third principal component consisted of lactic acid, maleic acid and coumaric acid. Orthogonal partial least squares discriminant analysis identified citric acid and malic acid as potential flavor difference markers. **Conclusion** The method is simple, accurate and sensitive, and is suitable for qualitative and quantitative analysis and evaluation of organic acids in green plum wine and other foods.

KEY WORDS: green plum wine; high performance liquid chromatography; organic acids; chemical pattern recognition

0 引 言

穿山岩洞藏青梅酒，是用新鲜采摘且清洗干净的青梅，加入蜂蜜、白糖，用洞藏 3 年的米香基酒浸泡，经天然溶洞洞藏储存 3 年，再调整酒精度等工序后制成的果酒。青梅酒作为历史悠久的发酵果酒，古有“青梅煮酒”[1]，便说明了其深厚的历史底蕴；如今因其香醇细腻且具有青梅特有的风味和潜在的健康价值而备受消费者的青睐[2−3]。现有研究表明其风味特征与营养大部分来源于酒体中各类有机酸的组成与含量[4]。有机酸不仅是青梅酒酸味的主要来源，还参与调节酒体的酸甜度[2]、稳定性和抑制微生物活性，同时对酒体的色泽、香气[5−6]及药理活性(如抗氧化性、开胃生津等)[7−10]也有着重要的影响。因此，精准高效地测定青梅酒有机酸的种类与含量，对于科学了解其风味形成机制、优化其酿造工艺及实现产品质量的严格把控，均具有重要的意义。

目前，高效液相色谱法因其分离效率高、灵敏度好、适用范围广，已成为分析复杂基质中多种有机酸的常用技术[11−17]。其他检验方法如离子色谱法[18−19]、气相色谱法[20]、气相色谱-质谱法[21−22]、高效液相色谱-质谱法[23−24]等，因其各自的局限性并不利于在企业中推广。现有研究针对果酒中有机酸的测定，多集中于少数几种主要有机酸(如酒石酸、琥珀酸、柠檬酸、乙酸、乳酸和苹果酸等)[11,15]，且同时对青梅酒中多种有机酸进行测定分析的研究也较为有限，尤其是对于包括柠檬酸、*D*-(+)苹果酸、*L*-(+)酒石酸、琥珀酸、马来酸、*L*-(+)乳酸、乙酸、单宁酸、富马酸、没食子酸和香豆酸在内的 11 种有机酸的同时测定，鲜少见有文献报道。这些有机酸在青梅酒中可能以不同的比例存在[5]，共同构成其特有的酸度轮廓[2]与风味层次[6]。

此外，仅依靠含量测定难以全面反映不同批次样品间的整体差异。化学模式识别分析[如聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA)等]在药品[25−29]、食品等领域[30−34]的运用已成熟广泛，其能够通过多变量统计方式，从多维数据中提取特征信息，实现对不同批次样品的分类与判别，为有机酸风味评价和质量分析提供更科学的依据。

因此，本研究旨在建立一种高效、准确的高效液相色谱检测方法，实现同时测定青梅酒中上述 11 种有机酸的含量，并对该方法进行了系统的方法学考察。然后，进一步结合化学模式识别分析，对不同批次的青梅酒样品进行聚类、主成分与判别分析，以揭示其有机酸组成的整体特征与差异规律。本研究可为青梅酒的风味评价、质量分析、工艺优化及新产品开发等提供可靠的分析方法和数据支撑，同时对果酒行业的标准化与精细化发展具有积极的推动作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

6 批穿山岩洞藏青梅酒和 3 批穿山岩洞藏青梅酒原浆(批号：20210616、20230622、20240715、20241128、

20250322、20250831, 原浆为 12、8、4 年份; 桂林义江酒业有限公司)。

L-(+)酒石酸($C_4H_6O_6$)(纯度 98.5%)、乙酸($C_2H_4O_2$)标准品(纯度 99.0%)(坛墨质检科技股份有限公司); *D*-(+)苹果酸($C_4H_6O_5$)、富马酸($C_4H_4O_4$)(纯度 99.0%)、香豆酸($C_6H_4O_4$)(纯度 97.0%)标准品(上海麦克林生化科技股份有限公司); 单宁酸($C_{76}H_{52}O_{46}$)标准品(纯度 96.0%, 上海毕得医药科技有限公司); *L*-(+)乳酸($C_3H_6O_3$)标准品(纯度 95.4%)、甲醇(色谱纯)(上海安谱实验科技股份有限公司); 马来酸($C_4H_4O_4$)(纯度 99.0%)、柠檬酸($C_6H_8O_7$)(纯度 99.5%)、琥珀酸($C_4H_6O_4$)(纯度 98.0%)标准品(碧云天生物技术有限公司); 没食子酸($C_7H_6O_5$)标准品(纯度 96.5%, 中国食品药品检定研究院); 磷酸(色谱纯, 成都市诺尔施科技有限责任公司); 纯水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

1.2　仪器与设备

Agilent 1260高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); XSE205DU 电子天平[精度 0.01 mg/0.1 mg, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; R-100 真空旋转蒸发仪(步琦实验室设备公司); TW-SPE 24 固相萃取装置(武汉恒信世纪科技有限公司); CAPECELL PAK ADME C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)(日本大阪曹達株式会社); Lumitek SAX 固相萃取柱(1000 mg/6 mL, 广州择谱科技有限公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　标准曲线溶液配制

分别精密称取柠檬酸约 2 g, *D*-(+)苹果酸约 500 mg、*L*-(+)乳酸和乙酸约 100 mg, 琥珀酸和单宁酸约 50 mg, 其余 *L*-(+)酒石酸、马来酸、富马酸、没食子酸、香豆酸均约 10 mg, 于不同的 10 mL 容量瓶中, 加 50%甲醇溶解, 定容, 摇匀, 即得 11 种单标储备液。分别精密吸取各单标储备液, 柠檬酸、*D*-(+)苹果酸和 *L*-(+)乳酸各 5 mL, *L*-(+)酒石酸和香豆酸各 1 mL, 琥珀酸和单宁酸各 2 mL, 马来酸和富马酸各 0.5 mL, 乙酸 2.5 mL, 没食子酸 0.25 mL, 于同一 50 mL 容量瓶中, 用纯水定容, 摇匀, 即得混合标准储备液。混合标准储备液各成分的质量浓度分别为, *L*-(+)酒石酸 20.1925 mg/L、*D*-(+)苹果酸 5006.2320 mg/L、单宁酸 199.7568 mg/L、*L*-(+)乳酸 999.6012 mg/L、乙酸 496.1880 mg/L、马来酸 10.3158 mg/L、柠檬酸 2.0280×10^4 mg/L、琥珀酸 201.1744 mg/L、富马酸 9.9693 mg/L、没食子酸 5.0470 mg/L、香豆酸 20.0014 mg/L。

混合标准曲线系列溶液: 取混合标准储备液用纯水稀释 100、50、20、10、5、1 倍, 即得混合标准曲线溶液。

1.3.2　样品前处理

精密量取充分混匀的样品 50 mL 置 150 mL 鸡心瓶中, 在 55 ℃下旋转蒸发浓缩到约 5 mL, 转移到 10 mL 的容量瓶中, 用纯水少量多次洗涤鸡心瓶, 洗涤液一并转移到 10 mL 容量瓶中, 用超纯水定容, 摇匀, 即得样品溶液。精密量取 1 mL 样品溶液至经过预活化的 Lumitek SAX 固相萃取柱(依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化)中, 整个萃取过程均控制流速在约 1 mL/min, 弃去流出液; 用 5 mL 纯水淋洗萃取柱, 弃去淋洗液; 用 5 mL 1%磷酸-甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液置 50 mL 鸡心瓶中, 洗脱液于 55 ℃下旋转蒸发至近干, 精密量取 1 mL 水振荡溶解残渣, 过 0.45 μm 水系针头滤膜, 即得待测样品溶液。

1.3.3　高效液相色谱条件

采用 CAPECELL PAK ADME C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱, 进样量 10 μL, 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为 0.1%磷酸水溶液, 进行梯度洗脱, 0 至 20 min, A 为 3%, 20~30 min, A 从 3%提高到 90%, 30~40 min, A 为 90%, 40~50 min, A 从 90%降到 3%, 50~60 min, A 为 3%, 流速为 1.0 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 210 nm。

1.3.4　方法学考察试验

精密度试验: 取混合标准曲线溶液 3, 按照 1.3.3 的色谱条件连续进样 6 次, 计算 6 次测得的 11 种有机酸的保留时间与峰面积的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

重复性试验: 精密量取 6 份充分混匀的同一批次青梅酒样品(批号: 20241128) 50 mL, 按 1.3.2 的样品处理方法平行制备 6 份样品溶液, 按 1.3.3 的色谱条件进行检测。计算 6 份样品溶液中 11 种有机酸的保留时间与峰面积的 RSD。

稳定性试验: 精密量取 1 份充分混匀的同一批次青梅酒样品(批号: 20241128) 50 mL, 按 1.3.2 的样品处理方法制备样品溶液, 将样品溶液放置 0、6、12、18、24、48 h, 按 1.3.3 的色谱条件进样测定, 计算不同放置时间的 11 种有机酸的保留时间与峰面积的 RSD。

加标回收试验: 精密量取 3 份同一批次的青梅酒样品(批号: 20241128) 50 mL, 分别精密加入混合标准储备液 1 mL, 接着按 1.3.2 的样品处理方法制备 3 份加标回收样品溶液, 按 1.3.3 的色谱条件进行检测。

1.4　数据处理

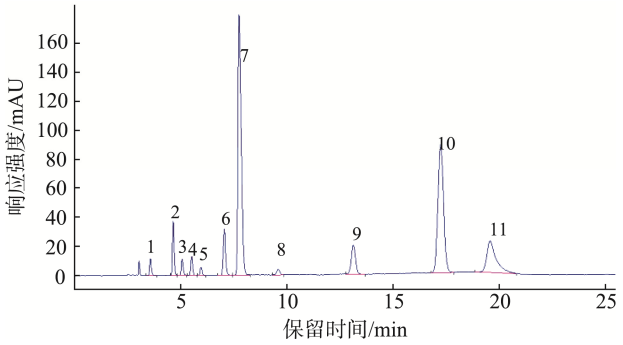
采用 Agilent 1260 HPLC 自带的数据处理系统制作标准曲线进行样品定量分析; 使用 WPS Office 2019 和 SPSS 25.0 以及 SIMCA 14.1 软件进行数据处理和化学模式识别分析。

2　结果与分析

2.1　HPLC 方法优化

综合评估了 3 种不同型号的色谱柱, 包括 Agilent ZORBAX SB-C_{18} (4.6 mm×150 mm, 5 μm)、CAPECELL PAK TYPE MGII C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm)和 CAPECELL PAK ADME C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm)。在相同的分析条件下, 以超高纯 B 型硅胶为基质并带大量二异丁基侧链未封端的 Agilent ZORBAX SB-C_{18} 柱 *L*-(+)酒石酸与溶剂峰重合, 单宁酸和 *L*-(+)乳酸分离度小于 1.5, 这可

能是由于未封端，高水相下柱效衰减快；以高纯度球形硅胶作为基质的 CAPECELL PAK TYPE MGII C_{18} 柱，具有中等极性，样品中 *D*-(+)苹果酸色谱峰与杂质峰分离度达不到 1.5，香豆酸理论塔板数小于 1000；CAPECELL PAK ADME C_{18} 柱则是填料表面键合了笼状结构的金刚烷基团，能在 100%纯水相条件下保持稳定，不发生塌陷，维持良好的分离能力，其分析得到的 11 种有机酸理论塔板数均大于 5000，且各主成分之间和样品杂质之间的分离度均大于 1.5，故本次研究的优选色谱柱为 CAPECELL PAK ADME C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm)柱。11 种有机酸混合标准溶液色谱图见图 1。



注：1. *L*-(+)酒石酸；2. *D*-(+)苹果酸；3. 单宁酸；4. *L*-(+)乳酸；5. 乙酸；6. 马来酸；7. 柠檬酸；8. 琥珀酸；9. 富马酸；10. 没食子酸；11. 香豆酸。下图同。

图 1 11 种有机酸混合标准溶液色谱图

Fig.1 Chromatogram of 11 kinds of organic acids mixed standard solutions

在检测波长、流动相及样品前处理的选择上，主要参考了相关标准 QB/T 8138—2025《青梅及青梅制品中有机酸测定方法》、GB 5009.157—2016《食品安全国家标准 食品有机酸的测定》，以及相关文献[13,17,33,35]的研究方法。检测波长预实验比较了 200、210、215 nm 波长检测得到的主成分与杂质的吸收值，发现波长在 210 nm 时，11 种有机酸均有良好的吸收且杂质干扰少，故选择了 210 nm 作为本研究的检测波长；而流动相则选择了甲醇–0.1%磷酸水溶液，按 1.3.3 洗脱程序进行梯度洗脱，此法既能有效分离目标成分，又能保护色谱柱；样品前处理预实验则是比较了直接进样、直接过萃取小柱(Cleanert IC C_{18}、Lumitek SAX、Cleanert PAX)、浓缩后进样和浓缩后过萃取小柱(Cleanert IC C_{18}、Lumitek SAX、Cleanert PAX)，发现浓缩后过 Lumitek SAX 固相萃取小柱效果最佳，此方法既能富集到目标成分进行定量检测，又能减少杂质干扰。样品溶液色谱图见图 2。

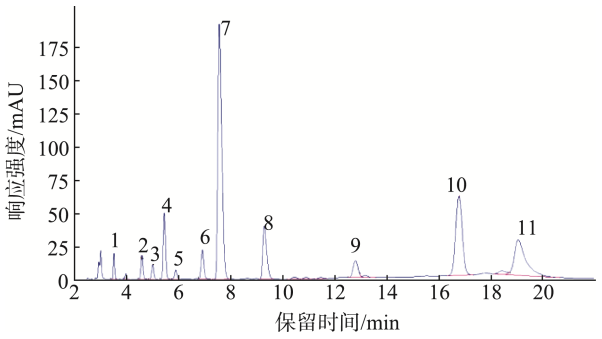


图 2 样品溶液色谱图

Fig.2 Chromatogram of the sample solution

2.2 HPLC 方法学考察

2.2.1 标准曲线和方法灵敏度

按照 1.3.3 色谱条件，对混合标准曲线溶液 1~6 进行测定分析，线性范围、回归方程、相关系数(r)、检出限以及定量限见表 1。测定结果表明 11 种有机酸在各自的质量浓度范围内线性关系良好，相关系数(r)均≥0.9993，检出限为 0.0044~2.5641 mg/L、定量限为 0.0146~8.6580 mg/L，均能满足样品检测分析需求。

表 1 11 种有机酸的线性范围、回归方程、相关系数、检出限及定量限

Table 1 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantitation of 11 kinds of organic acids

有机酸种类	线性范围/(mg/L)	回归方程	相关系数(r)	检出限/(mg/L)	定量限/(mg/L)
L-(+)酒石酸	0.2019~20.1925	Y=1.3532X+2.2017	0.9993	0.0384	0.1282
D-(+)苹果酸	50.0623~5006.2320	Y=0.5121X+3.4821	0.9997	1.4458	4.8129
单宁酸	1.9976~199.7568	Y=0.6968X+1.2851	0.9994	0.0769	0.2564
L-(+)乳酸	9.9960~999.6012	Y=0.8033X+2.0924	0.9997	0.7692	2.5641
乙酸	4.9619~496.1880	Y=0.3953X+0.4568	0.9998	0.2143	0.7143
马来酸	0.1032~10.3158	Y=60.5070X+2.5593	0.9999	0.0044	0.0146
柠檬酸	202.7989~2.0280×10^4	Y=0.4811X+1.2161	0.9999	2.5974	8.6580
琥珀酸	2.0117~201.1744	Y=0.4117X+0.5745	0.9997	0.1111	0.3704
富马酸	0.9969~9.9690	Y=56.0031X-2.8079	0.9996	0.0058	0.0192
没食子酸	0.0505~5.0470	Y=164.8010X+3.5081	0.9999	0.0103	0.0345
香豆酸	0.2000~20.0014	Y=13.5760X-16.6066	0.9997	0.0214	0.0714

2.2.2　精密度、重复性及稳定性试验

精密度试验、重复性试验、稳定性试验结果见表 2。由表 2 可知, 此 3 项试验的保留时间 RSD 在 0.04%~0.45%之间, 峰面积保留时间 RSD 在 0.36%~2.57%之间, 均小于 5%, 表明仪器性能稳定, 精密度和重复性良好。样品溶液在 48 h 内稳定。

2.2.3　回收率试验

回收率试验结果见表 3, 由表 3 可知, 11 种有机酸平均回收率为 92.69%~104.35%, RSD 为 0.29%~4.72%, 表明该方法准确度良好, 能满足检测分析要求。

2.3　样品的含量测定

9 批次青梅酒样品, 按照 1.3.2 的方法平行制备样品溶液, 在 1.3.3 色谱条件下进行测定分析, 9 个批次含量测定的结果见表 4。结果直观显示, 柠檬酸含量最高, *D*-(+)苹果酸次之, *L*-(+)酒石酸、马来酸、富马酸、没食子酸和香豆酸含量都比较低, 柠檬酸、琥珀酸、富马酸随着年份增加含量呈上升趋势。

表 2　11 种有机酸的精密度试验、重复性试验、稳定性试验结果(%, *n*=6)

Table 2　Precision, reproducibility and stability test results of 11 kinds of organic acids (%, *n*=6)

组分名称	精密度试验		重复性试验		稳定性试验	
	保留时间 RSDs/%	峰面积 RSDs/%	保留时间 RSDs/%	峰面积 RSDs/%	保留时间 RSDs/%	峰面积 RSDs/%
L-(+)酒石酸	0.23	2.18	0.34	2.25	0.25	2.03
D-(+)苹果酸	0.11	0.95	0.18	1.05	0.21	1.02
单宁酸	0.23	1.68	0.30	1.98	0.45	1.51
L-(+)乳酸	0.10	1.01	0.15	1.25	0.08	1.13
乙酸	0.13	0.58	0.18	0.78	0.12	0.68
马来酸	0.12	2.01	0.11	2.31	0.11	2.11
柠檬酸	0.19	0.39	0.17	0.46	0.18	0.36
琥珀酸	0.08	1.34	0.07	1.52	0.07	1.39
富马酸	0.08	0.89	0.07	1.02	0.09	0.99
没食子酸	0.04	0.52	0.05	0.98	0.06	0.65
香豆酸	0.06	2.37	0.05	2.57	0.08	2.17

表 3　11 种有机酸的回收率和 RSDs (*n*=3)

Table 3　Recoveries and RSDs of the 11 kinds of organic acids (*n*=3)

有机酸	样品量/(mg/L)	加入量/μg	测得量/μg	回收率/%	平均回收率/%	RSDs/%
L-(+)酒石酸	0.2170	20.190	29.2	90.89	94.19	3.22
			30.4	96.83		
			30.0	94.85		
D-(+)苹果酸	393.0000	5006.000	2.46×10^4	98.88	98.88	2.02
			2.47×10^4	100.88		
			2.45×10^4	96.88		
单宁酸	2.5700	199.800	337	104.35	104.35	0.48
			336	103.85		
			338	104.85		
L-(+)乳酸	17.6000	999.600	1.89×10^3	101.04	101.04	0.99
			1.90×10^3	102.04		
			1.88×10^3	100.04		
乙酸	11.1000	496.200	1.04×10^3	97.74	97.74	2.07
			1.03×10^3	95.73		
			1.05×10^3	99.76		
马来酸	0.1760	10.320	19.5	103.68	101.74	1.91
			19.1	99.81		
			19.3	101.74		

表 3(续)

有机酸	样品量/(mg/L)	加入量/μg	测得量/μg	回收率/%	平均回收率/%	RSDs/%
柠檬酸	1.36×10^3	2.028×10^4	8.84×10^4	100.59	100.76	0.29
			8.85×10^4	101.08		
			8.84×10^4	100.59		
琥珀酸	0.7150	201.200	244	103.50	104.17	0.56
			246	104.50		
			246	104.50		
富马酸	0.0632	9.969	12.1	89.68	92.69	4.72
			12.2	90.68		
			12.9	97.70		
没食子酸	0.0689	5.047	8.70	103.96	100.89	2.99
			8.40	98.18		
			8.51	100.36		
香豆酸	0.2530	20.000	33.6	104.75	103.08	1.49
			33.0	101.75		
			33.2	102.75		

表 4 青梅酒中 11 种有机酸的含量(mg/L)

Table 4 Content of 11 kinds of organic acids in green plum wine (mg/L)

编号	批号	*L*-(+)酒石酸	*D*-(+)苹果酸	单宁酸	*L*-(+)乳酸	乙酸	马来酸	柠檬酸	琥珀酸	富马酸	没食子酸	香豆酸
Y1	20210616	0.272	230	2.72	10.2	41.50	0.0182	1.57×10^3	4.740	0.113	0.149	0.087
Y2	20230622	0.215	278	1.82	15.5	15.50	0.0817	1.24×10^3	0.429	0.106	0.068	0.200
Y3	20240715	0.260	582	2.20	18.0	10.00	0.1940	1.36×10^3	0.740	0.074	0.064	0.080
Y4	20241128	0.217	393	2.57	17.6	11.10	0.1760	1.36×10^3	0.715	0.063	0.069	0.253
Y5	20250322	0.239	611	2.87	20.0	12.30	0.1290	1.64×10^3	5.420	0.040	0.091	0.129
Y6	20250831	0.133	438	3.21	16.3	8.42	0.0526	1.16×10^3	0.486	0.022	0.067	0.099
Y7	12 年原浆	1.110	842	15.84	25.6	18.50	0.0548	3.72×10^3	22.300	1.580	0.056	0.492
Y8	8 年原浆	0.248	879	3.88	37.9	11.50	0.0765	2.26×10^3	0.927	0.250	0.047	1.520
Y9	4 年原浆	0.360	569	7.05	31.4	46.40	0.1060	2.15×10^3	0.853	0.237	0.136	1.730

2.4 化学模式识别分析

2.4.1 聚类分析

以 9 批次青梅酒样品中 11 种有机酸的含量(表 4)作为变量, 导入 SPSS 25.0 软件, 采取组间平方欧氏距离为区间, 使用平均连接(组间)进行聚类[30–34]。得到聚类谱系图见图 3。由图 3 可知, 当类间距离为 5 时, 可将 9 批次样本聚为 3 类, 其中样品 Y1~Y6 聚为 1 类, 样品 Y8~Y9 聚为 2 类, 样品 Y7 聚为 3 类。

2.4.2 主成分分析

使用 SPSS 25.0 软件对 9 批次青梅酒样品中 11 种有机酸的含量(表 5), 进行主成分分析[25–27], 以特征值大于 1 为提取标准, 提取了 3 大主成分, 其中第 1 大主成分特征值为 5.618, 方差贡献率为 51.07%, 第 2 大主成分特征值为 2.360, 方差贡献率为 21.45%, 第 3 大主成分特征值为 2.085, 方差贡献率为 18.95%, 这 3 大主成分累计贡献率为 91.48%, 表达了青梅酒样品中 11 种有机酸 91.48%的信息量。

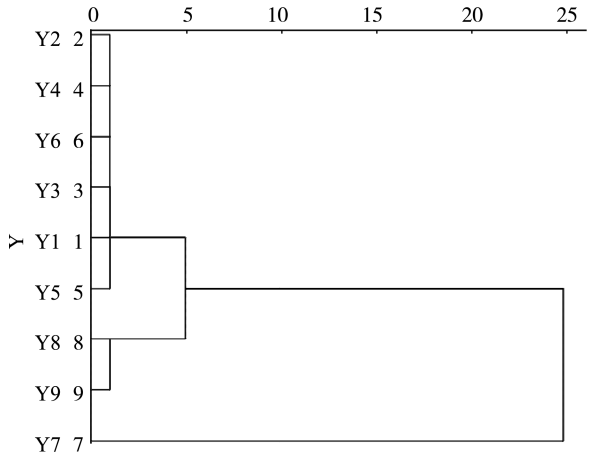


图 3 9 批次青梅酒样品聚类分析图

Fig.3 Cluster analysis diagram of 9 batches of green plum wine samples

表 5　9 批次青梅酒样品中 11 种有机酸含量主成分结果

Table 5　Principal component results of 11 kinds of organic acids in 9 batch samples of green plum wine

主成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差百分比	累积/%	总计	方差百分比	累积/%
1	5.618	51.070	51.07	5.618	51.07	51.07
2	2.360	21.450	72.53	2.360	21.45	72.53
3	2.085	18.950	91.48	2.085	18.95	91.48
4	0.692	6.287	97.77			
5	0.187	1.696	99.46			
6	0.037	0.341	99.80			
7	0.020	0.183	99.98			
8	0.002	0.015	100.00			

而通过主成分矩阵(表 6)可知, 第 1 大主成分包括 *L*-(+)酒石酸、*D*-(+)苹果酸、单宁酸、柠檬酸、琥珀酸、富马酸, 第 2 大主成分是乙酸和没食子酸, 第 3 大主成分为 *L*-(+)乳酸、马来酸和香豆酸, 说明样品中的含量差异并不是单一的成分影响, 而是多组分作用的结果。图 4A 得分图则表明不同批次间成分存在差异, 与聚类分析结果一致。

2.4.3　正交偏最小二乘法-判别分析

为了分析得到可能影响青梅酒风味差异的有机酸主要成分, 采用 SIMCA 14.1 软件, 以 9 批次青梅酒样品中 11 种有机酸的含量(表 4)为变量, 进行 OPLS-DA[25–27,34], 结果显示, R^2X=0.699, R^2Y=0.979, Q^2=0.697 均大于 0.5, 说明所建立的模型稳定可靠, 可以用来区分不同批次的样品, 见图 4B。利用 200 次置换试验进行分析(图 4C), R^2=0.184<0.4, Q^2=–0.681<0.05, 再次表明模型的可靠性, 不存在过度拟合的情形, 所建立的 OPLS-DA 模型可用来判别成分间的差异。再以变量重要性投影(variable importance projection, VIP)值大于 1 的成分进行差异筛选, 见图 4D, 可得柠檬酸与 *D*-(+)苹果酸均大于 1, 可作为有机酸风味分析潜在的质量差异标志物。所得结果与现有研究文献[1,11,14]结果一致, 均显示柠檬酸是最主要的有机酸, *D*-(+)苹果酸次之, 表明数据分析结果有效可靠。

表 6　9 批次青梅酒样品中 11 种有机酸含量主成分矩阵

Table 6　Principal component matrix of 11 kinds of organic acid content in 9 batches of green plum wine samples

组分	主成分		
	1	2	3
L-(+)酒石酸	0.937	0.113	–0.282
D-(+)苹果酸	0.748	–0.496	0.328
单宁酸	0.962	0.136	–0.117
L-(+)乳酸	0.558	–0.318	0.761
乙酸	0.106	0.897	0.376
马来酸	–0.294	–0.585	0.081
柠檬酸	0.993	0.066	0.041
琥珀酸	0.865	0.140	–0.454
富马酸	0.954	0.050	–0.270
没食子酸	–0.227	0.898	0.227
香豆酸	0.388	0.037	0.908

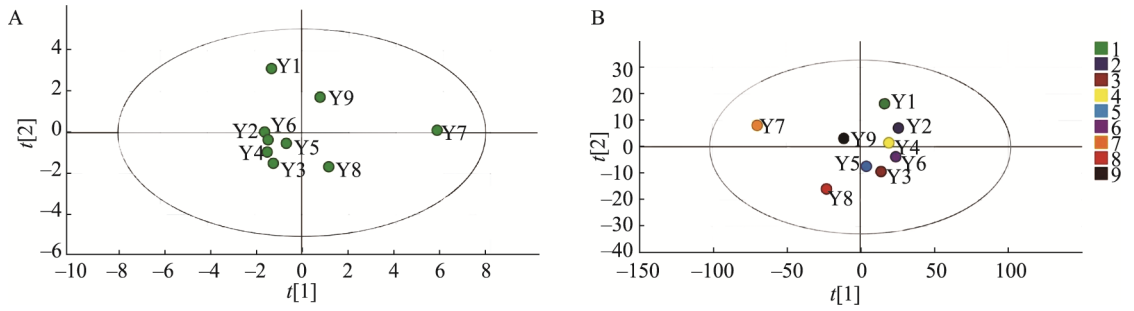


图 4　9 批次青梅酒样品中 11 种有机酸含量 PCA-X 图(A)、OPLS-DA 得分图(B)、OPLS-DA 置换检验图(C)、OPLS-DA VIP 图(D)

Fig. 4　PCA-X (A), OPLS-DA score (B), OPLS-DA permutation test (C) and OPLS-DA VIP (D) plot of 11 kinds of organic acid contents in 9 batches of green plum wine samples

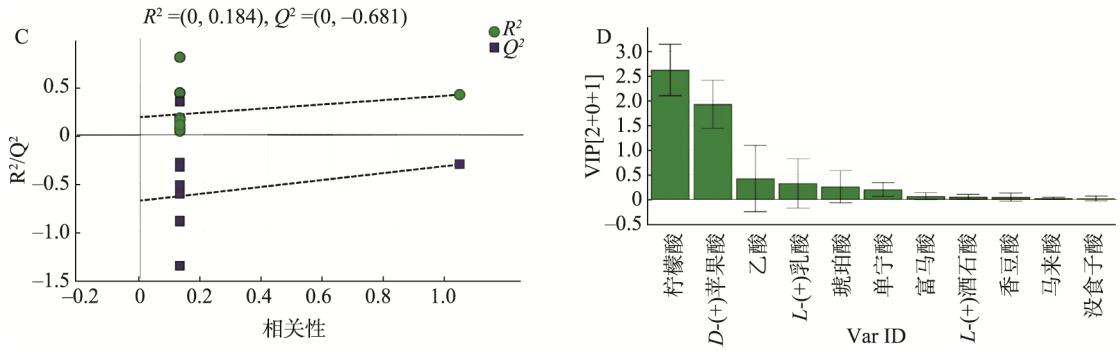


图 4(续) 9 批次青梅酒样品中 11 种有机酸含量 PCA-X 图(A)、OPLS-DA 得分图(B)、OPLS-DA 置换检验图(C)、OPLS-DA VIP 图(D)

Fig. 4 PCA-X (A), OPLS-DA score (B), OPLS-DA permutation test (C) and OPLS-DA VIP (D) plot of 11 kinds of organic acid contents in 9 batches of green plum wine samples

3 结 论

本研究建立了一种高效、准确的高效液相色谱检测方法，实现了同时测定青梅酒中 11 种有机酸[柠檬酸、*D*-(+)苹果酸、*L*-(+)酒石酸、琥珀酸、马来酸、*L*-(+)乳酸、乙酸、单宁酸、富马酸、没食子酸、香豆酸]的含量，并对该方法进行了系统的方法学考察，结果显示 11 种有机酸在各自质量浓度范围内线性关系良好($r \geqslant 0.9993$)，平均加标回收率为 92.69%~104.35%，相对标准偏差为 0.29%~4.72%，证明该方法测量数据准确可靠。然后，进一步结合化学模式识别分析，对不同批次的青梅酒样品的测量数据进行了聚类、主成分与判别分析，结果表明，当类间距离为 5 时，可将 9 批次样本聚为 3 类；主成分分析提取了 3 大主成分，表明不同批次间成分存在差异，与聚类分析结果一致；判别分析可见柠檬酸与 *D*-(+)苹果酸 VIP 均大于 1，可作为有机酸风味分析潜在的质量差异标志物。所得结果与现有研究文献[1,11,14]结果一致，均显示柠檬酸是最主要的有机酸，*D*-(+)苹果酸次之，表明数据分析结果有效可靠。本研究为青梅酒的风味评价、质量分析、工艺优化及新产品开发等提供了可靠的分析方法和数据支撑，同时对果酒行业的标准化与精细化发展具有积极的推动作用。但是，本研究还存在一定的局限性，有机酸的成分种类还需进一步探索，样本量还需进一步扩大，从而得到更多的数据进行综合分析评价。

参考文献

[1] 严红光, 林莉, 符洋, 等. 不同成熟度青梅果实发酵果酒品质分析[J]. 食品科技, 2019, 44(8): 77–81.
Yan Hongguang, Lin Li, Fu Yang, et al. Quality analysis of fermented fruit wine from green plum fruits at different maturity stages [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(8): 77–81.

[2] 杨光, 毛俊莹, 陶猛, 等. 不同品种树莓果实甜酸风味品质特征分析[J]. 江苏农业科学, 2025, 53(16): 221–227.
Yang Guang, Mao Junying, Tao Meng, et al. Analysis of sweet and sour flavor quality characteristics in different raspberry varieties [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2025, 53(16): 221–227.

[3] 王唯一, 王嘉欣, 王煜晨, 等. 基于代谢组学与电子感官技术的树莓果酒陈酿期有机酸代谢及风味关联分析[J]. 食品科学技术学报, 2025, 43(5): 79–89.
Wang Weiyi, Wang Jiaxin, Wang Yuchen, et al. Correlation analysis of organic acid metabolism and flavor during aging of raspberry wine based on metabolomics and electronic sensing technology [J]. Journal of Food Science and Technology, 2025, 43(5): 79–89.

[4] 余洋洋, 徐玉娟, 余元善, 等. 青梅中有机酸的种类及营养健康效应研究进展[J]. 中国果菜, 2020, 40(12): 24–28.
Yu Yangyang, Xu Yujuan, Yu Yuanshan, et al. Research progress on the types of organic acids in green plums and their nutritional and health effects [J]. China Fruit & Vegetable, 2020, 40(12): 24–28.

[5] 李涛, 赵云. 不同酒精体积分数浸泡型青梅酒的理化成分研究[J]. 食品工业, 2021, 42(11): 93–95.
Li Tao, Zhao Yun. Study on the physicochemical components of different alcohol volume fraction-fermented green plum wine [J]. Food Industry, 2021, 42(11): 93–95.

[6] 蒋萍萍, 韩丹阳, 刘红娜, 等. 青梅酒发酵工艺优化及风味物质分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(13): 127–134.
Jiang Pingping, Han Danyang, Liu Hongna, et al. Optimization of Vatica wine fermentation process and analysis of flavor substances [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(13): 127–134.

[7] 陈智毅, 吴继军, 刘学铭, 等. 青梅酒的抗氧化作用及其 Lyoniresinol 含量的 HPLC 分析[J]. 食品科学, 2009, 30(15): 82–85.
Chen Zhiyi, Wu Jijun, Liu Xueming, et al. Antioxidant effects of Qingmei wine and HPLC analysis of its Lyoniresinol content [J]. Food Science, 2009, 30(15): 82–85.

[8] 陈铭中, 吴海珍, 刘志芳, 等. 不同酵母发酵的青梅酒抗氧化及有机酸的研究[J]. 食品工业, 2020, 41(11): 190–194.
Chen Mingzhong, Wu Haizhen, Liu Zhifang, et al. Study on the antioxidant and organic acid content of green plum wine fermented by different yeast strains [J]. Food Industry, 2020, 41(11): 190–194.

[9] 陈智毅, 刘学铭, 吴继军, 等. 青梅加工副产物的成分分析[J]. 食品与机械, 2009, 25(2): 86–88.
Chen Zhiyi, Liu Xueming, Wu Jijun, et al. Component analysis of by-products from green plum processing [J]. Food and Machinery, 2009, 25(2): 86–88.

[10] 任子鸣, 张月雷, 王刚. 单宁酸抗菌机制及在药物递送系统中的应用[J]. 材料导报, 2024, 38(Z2): 20240009.
Ren Ziming, Zhang Yuelei, Wang Gang. Mechanism of tannic acid antibacterial action and its application in drug delivery systems [J]. Materials Herald, 2024, 38(Z2): 20240009.

[11] 翟焕趁, 史怀, 宋亚娜, 等. 反相 HPLC 法同时测定青梅中的 7 种有机酸[J]. 福建农业学报, 2007, 22(4): 414–417.
Zhai Huanchen, Shi Huai, Song Yana, et al. Simultaneous determination of seven organic acids in green plum by reversed-phase HPLC [J]. Journal of Fujian Agricultural Sciences, 2007, 22(4): 414–417.

[12] 陈琳, 刘丽梅, 王瑞海, 等. 高效液相色谱法测定乌梅丸中柠檬酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(1): 30–31.
Chen Lin, Liu Limei, Wang Ruihai, et al. Determination of citric acid content in Wumei pills by high-performance liquid chromatography [J]. China Journal of Experimental Formulary, 2010, 16(1): 30–31.

[13] 李晓静, 李腾, 李永库, 等. 高效液相色谱法测定蓝莓果汁中 11 种有

机酸含量[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2018, 39(1): 83–86.
Li Xiaojing, Li Teng, Li Yongku, et al. Determination of 11 organic acids in blueberry juice by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2018, 39(1): 83–86.

[14] 潘惠慧, 吴晓琴, 陆柏益, 等. 高效液相色谱法分析和检测青梅花、枝、叶中有机酸的种类和含量[J]. 科技通报, 2008, 24(3): 351–354.
Pan Huihui, Wu Xiaoqin, Lu Baiyi, et al. Analysis and determination of organic acids in qingmei fruit, branches, and leaves by high-performance liquid chromatography [J]. Science and Technology Bulletin, 2008, 24(3): 351–354.

[15] 舒楠, 路文鹏, 杨义明, 等. 基于 HPLC 法同时检测山葡萄酒中 6 种有机酸含量[J]. 中国酿造, 2025, 44(11): 266–271.
Shu Nan, Lu Wenpeng, Yang Yiming, et al. Simultaneous determination of 6 organic acids in vitis amurensis wine by HPLC [J]. China Brewing, 2025, 44(11): 266–271.

[16] 赵旭珠, 夏陈, 朱永清, 等. 不同地区不同成熟度青梅有机酸的测定及相关性分析[J]. 食品与机械, 2021, 37(11): 34–37.
Zhao Xuzhu, Xia Chen, Zhu Yongqing, et al. Determination of organic acids in green plums of different regions and maturity levels and their correlation analysis [J]. Food and Machinery, 2021, 37(11): 34–37.

[17] 胡燕. 高效液相色谱法测定茶叶中 12 种有机酸的研究[J]. 中国茶叶, 2025, 47(10): 96–102.
Hu Yan. Study on the determination of 12 organic acids in tea by high performance liquid chromatography [J]. China Tea, 2025, 47(10): 96–102.

[18] 徐玲萍, 张芳芳, 罗振玲, 等. 基于离子交换色谱法同时测定果酒中 8 种有机酸[J]. 中国酿造, 2023, 42(12): 249–255.
Xu Lingping, Zhang Fangfang, Luo Zhenling, et al. Simultaneous determination of 8 organic acids in fruit wine based on ion exchange chromatography [J]. China Brewing, 2023, 42(12): 249–255.

[19] 龙四红, 陈谢花, 李红洲, 等. 离子色谱法测定酸汤中 13 种有机酸的分析方法[J]. 食品科技, 2022, 47(8): 256–263.
Long Sihong, Chen Xiehua, Li Hongzhou, et al. Analytical method for the determination of 13 organic acids in sour soup by ion chromatography [J]. Food Science and Technology, 2022, 47(8): 256–263.

[20] 刘瑞红, 潘立宁, 王晓瑜, 等. 气相色谱测定烟草中非挥发有机酸方法改进[J]. 化学分析计量, 2022, 31(12): 22–28.
Liu Ruihong, Pan Lining, Wang Xiaoyu, et al. Improvement of the analysis method for non-volatile organic acids in tobacco by gas chromatography [J]. Chemicalanalysis and Meterage, 2022, 31(12): 22–28.

[21] 马莹莹, 吴赫川, 刘清斌, 等. 基于 HS-SPME-GC-MS 的青梅酒香气成分研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(26): 349–353.
Ma Yingying, Wu Hechuan, Liu Qingbin, et al. Study on aroma components of Qingmei wine based on HS-SPME-GC-MS [J]. Anhui Agricultural Science, 2015, 43(26): 349–353.

[22] 凌志洲, 夏雨, 曾荣, 等. 超声波辅助提取青梅有机酸及其成分分析[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(12): 140–146.
Ling Zhizhou, Xia Yu, Zeng Rong, et al. Ultrasonic assisted extraction and component analysis of organic acids from *Prunus mume* [J]. Food Research and Development, 2020, 41(12): 140–146.

[23] 宗凌丽, 孙小杰, 应月, 等. 全自动固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定果酒中14种有机酸[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(10): 270–278.
Zong Lingli, Sun Xiaojie, Ying Yue, et al. Determination of 14 kinds of organic acids in fruit wine by automated solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(10): 270–278.

[24] 刘兰花, 孙智伟, 刘长庆, 等. 液相色谱-高分辨质谱法检测果蔬脆片中 9 种有机酸含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(15): 264–272.
Liu Lanhua, Sun Zhiwei, Liu Changqing, et al. Determination of 9 kinds of organic acids in fruit and vegetable crisps by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(15): 264–272.

[25] 赵婧, 田俊娜, 王佳敏, 等. 基于 FTIR 与 HPLC 分析的远志散胶囊化学模式识别[J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(6): 456–462.
Zhao Jing, Tian Junna, Wang Jiamin, et al. Chemical pattern recognition of Yuanzhi San capsules based on FTIR and HPLC analysis [J]. International Journal of Pharmaceutical Research, 2020, 47(6): 456–462.

[26] 邵晓玮, 张平, 李玉, 等. 基于一测多评法多指标定量及化学模式识别法的疏风活络丸质量评价[J]. 化学研究与应用, 2025, 37(7): 1977–1987.
Shao Xiaowei, Zhang Ping, Li Yu, et al. Quality evaluation of Shufeng Huoluo Pill based on multi-index quantitative analysis and chemical pattern recognition using the one-test multi-evaluation method [J]. Chemical Research and Application, 2025, 37(7): 1977–1987.

[27] 龚婕, 姚芙, 厉晓, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别的白薇质量评价[J]. 中草药, 2025, 56(15): 5578–5585.
Gong Jie, Yao Fu, Li Xiao, et al. Quality evaluation of Baivei based on HPLC fingerprinting and multi-component quantitative analysis combined with chemical pattern recognition [J]. Chinese Herbal Medicine, 2025, 56(15): 5578–5585.

[28] Liu Xiaoyan, Jiang Wenwen, Su Mei, et al. Quality evaluation of traditional Chinese medicines based on fingerprinting [J]. Journal of Separation Science, 2020, 43(1): 6–17.

[29] Wen Liu, Liyuan Huang, Jiashan Zhu, et al. Identification of *Vernonia patula* Merr. and its similar varieties based on a combination of HPLC fingerprinting and chemical pattern recognition [J]. Molecules, 2024, 29(7): 1517.

[30] 杨安源, 何焜鹏, 林丹, 等. 基于数据统计与化学模式识别分析的豆粕溶剂残留组分评价研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(16): 114–121.
Yang Anyuan, He Kunpeng, Lin Dan, et al. Evaluation of solvent residue components in soybean meal based on statistical data and chemical pattern recognition analysis [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(16): 114–121.

[31] 王文晖, 江娜, 韩红亮, 等. 基于双进样液相色谱法结合化学模式识别的不同产地龙眼肉质量差异分析[J]. 药物评价研究, 2025, 48(7): 1906–1919.
Wang Wenhui, Jiang Na, Han Hongliang, et al. Analysis of quality differences in longan flesh from different origins based on dual-injection liquid chromatography combined with chemical pattern recognition [J]. Journal of Drug Evaluation Research, 2025, 48(7): 1906–1919.

[32] 何平, 陈亚清, 张友萍, 等. 指纹图谱结合化学模式分析评价小曲清香乾康白酒质量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(17): 1–7.
He Ping, Chen Yaqing, Zhang Youping, et al. Evaluation analysis in Xiaoqu Qingxiang Qiangkang Baijiu by fingerprint and chemical pattern recognition [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(17): 1–7.

[33] 张长勇, 张雪婧, 纪丽君, 等. 有机酸指纹图谱结合化学计量学分析鉴定黄酒的方法研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(1): 48–55.
Zhang Changyong, Zhang Xuejing, Ji Lijun, et al. Study on the identification of huangjiu using organic acid fingerprinting combined with chemometric analysis [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(1): 48–55.

[34] 戴丽莉, 李晓娟, 赵翡翠. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别对葡萄醋的质量评价[J]. 新疆医科大学学报, 2024, 47(2): 275–281.
Dai Lili, Li Xiaojuan, Zhao Feicui. Quality evaluation of grape vinegar based on HPLC fingerprinting combined with chemical pattern recognition [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2024, 47(2): 275–281.

[35] 林耀盛, 刘学铭, 钟炜雄, 等. 青梅有机酸谱特性分析及其应用研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(9): 280–285.
Lin Yaosheng, Liu Xueming, Zhong Weixiong, et al. Analysis of organic acid profiles in green plum and its application research [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(9): 280–285.

(责任编辑: 蔡世佳　韩晓红)