

团体标准

T/ NAIA×××-××××

酿酒葡萄及葡萄酒中单宁酸含量的测定  
高效液相色谱法

Determination of tannic acid in wine grape and wine by  
High-performance liquid chromatography

2022-××-××发布

2022-××-××实施

宁夏化学分析测试协会 发布

# 前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏农产品质量标准与检测技术研究所、宁夏食品检测研究员、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：刘霞、杨春霞、赵子丹、杨静、王晓菁、吴燕、牛艳、葛谦、张锋锋、张学玲、陈翔、开建荣、张艳、单巧玲、石欣、王晓静、李冬、张小飞。

本文件为首次发布。



# 酿酒葡萄及葡萄酒中单宁酸含量的测定

## 高效液相色谱法

### 1 范围

本文件规定了酿酒葡萄及葡萄酒中单宁酸含量的高效液相色谱测定方法。  
本文件适用于酿酒葡萄及葡萄酒中的高效液相色谱测定。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 原理

试样用甲醇水溶液震荡提取，微孔滤膜过滤，高效液相色谱法测定，外标法定量。

### 4 试剂与材料

除非另有规定外，所有试剂均为分析纯，水符合GB/T 6682中规定的一级水。

4.1 乙腈（CH<sub>3</sub>CN）：色谱纯。

4.2 甲醇（CH<sub>4</sub>O）：色谱纯。

4.3 氯化钠（NaCl）：分析纯。

4.4 磷酸溶液（H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>）：优级纯。

4.5 提取剂：甲醇+水=（80~90）+（20~10）（V+V），取 80 mL 或 90mL 甲醇、 20mL 或 10mL 水混匀。

4.6 单宁酸标准品（CAS 1401-55-4，HPLC ≥ 98%）。

4.7 标准溶液配制：准确称取适量的单宁酸标准品（精确至 0.01 mg），用甲醇溶解，配制成 1000 μg/mL 的标准储备溶液，于-18 °C 冰箱中贮存。

### 5 仪器与设备

5.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

5.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.00001 g。

5.3 组织捣碎机。

5.4 振荡器。

5.5 离心机：4000 r/min。

- 5.6 涡旋混合器。  
5.7 离心管：50 mL，塑料。  
5.8 滤膜：0.22 μm，有机相。

## 6 试样的制备

6.1 酿酒葡萄样品于-18 °C冷冻冰箱中保存。试验时去除异常酿酒葡萄果粒，用高速组织捣碎机打浆，置于样品瓶中，-18 °C冷冻备用。

6.2 葡萄酒样品于市场购买。

## 7 试样的提取

7.1 酿酒葡萄：称取酿酒葡萄样品 3.00 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管，加入 25 mL 甲醇水溶液，在恒温振荡器上震荡 20 min，放入离心机，4000 r/min 离心 3 min，吸取 1 mL 上清液过 0.22 μm 滤膜，用高效液相色谱法测定。

7.2 葡萄酒：吸取葡萄酒 3.00 mL（精确至 0.01 mL）于 50 mL 离心管，加入 25 mL 甲醇水溶液，在恒温振荡器上震荡 20 min，放入离心机，4000 r/min 离心 3 min，吸取 1 mL 上清液过 0.22 μm 滤膜，用高效液相色谱法测定。。

## 8 仪器参考条件

- 8.1 色谱柱：月旭 Ultimate ®LP-C18 型商品柱（25 cm×4 cm I.D.），5.0 μm，或性能相当者。  
8.2 柱温：30 °C。  
8.3 检测波长：280nm。  
8.4 流速：0.8mL/min。  
8.5 进样量：10.0 μL。  
8.6 流动相：见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间 / min	流速 mL/min	A 相（0.1%磷酸水溶液）%	B 相（乙腈）%
	0.8	5	95
15	0.8	8	92
20	0.8	10	90
20.1	0.8	5	95
25	0.8	5	95

## 9 标准曲线的绘制

用甲醇将单宁酸标准储备液（4.7）按不同倍数稀释，制备系列单宁酸标准工作液，单宁酸浓度依次为0.5、2、10、20、40、60、80、100mg/L，以质量浓度x（mg/L）为横坐标，以相应的响应峰面积y为纵坐标绘制标准曲线（单宁酸标准色谱图见图A.1）。

## 10 测定

将待测液上机测定，根据标准曲线得到待测液中单宁酸的浓度，以保留时间定性，色谱峰面积定量，试样溶液中单宁酸响应值均应在标准曲线范围内。同时做空白试验。

## 11 结果计算和表达

样品中单宁酸的含量以质量分数w计，数值以毫克每千克（mg/kg）计，按公式（1）计算：

$$w = \frac{\rho \times v \times 1000}{m \times 1000} \times n \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

*p* 一样液中酚酸测定质量浓度，单位为毫克/升，mg/L；

*V* 一样品最终定容体积，单位为毫升，mL；

*m* 一称取样品的质量，单位为克，g；

*n* 一稀释倍数

注：计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

## 12 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

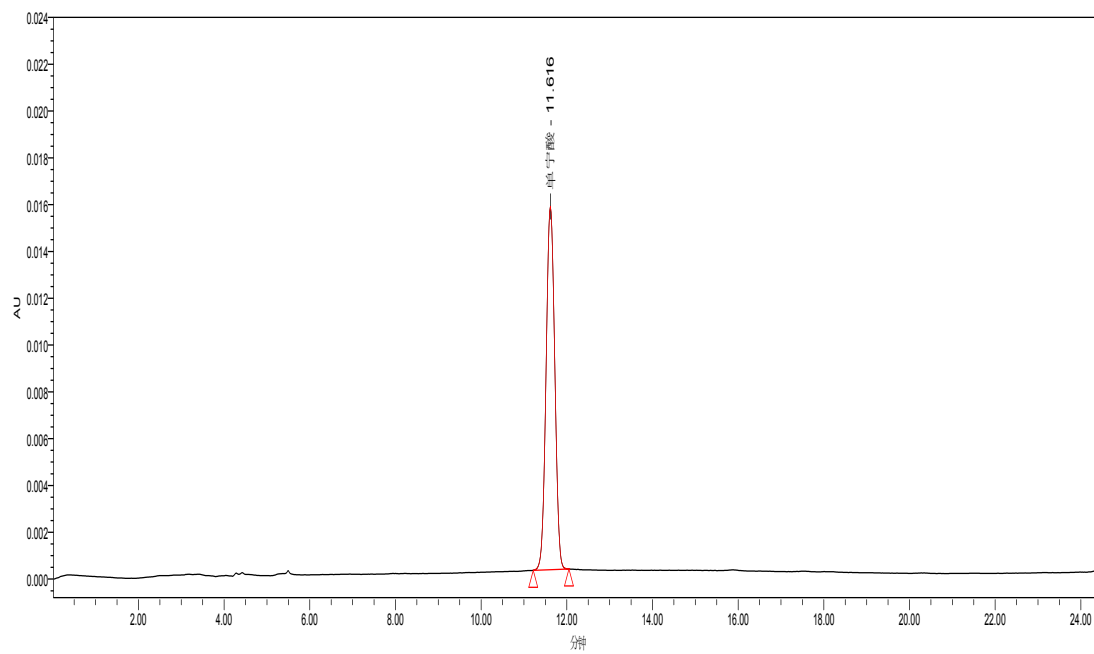
## 13 定量限

本方法的定量限 0.5mg/kg。

## 14 色谱图

单宁酸标准溶液色谱图见附录A.1。

附录 A  
(资料性附录)  
单宁酸标准溶液色谱图



图A.1 单宁酸标准溶液（浓度为20mg/L）色谱图