

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4675.11—2016

### 出口葡萄酒中 7 种花色苷的测定 超高效液相色谱法

Determination of seven anthocyanins in wine for export—Ultra high performance  
liquid chromatography method

2016-12-12 发布

2017-07-01 实施



中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

SN/T 4675《出口葡萄酒质量安全分析方法》共分为 30 个部分：

- SN/T 4675.1 出口葡萄酒中甘油的测定 酶法；
- SN/T 4675.2 出口葡萄酒中 2,3-丁二醇的测定 气相色谱法；
- SN/T 4675.3 出口葡萄酒中乙醇稳定碳同位素比值的测定；
- SN/T 4675.4 出口葡萄酒中乳酸的测定 酶法；
- SN/T 4675.5 出口葡萄酒中有机酸的测定 离子色谱法；
- SN/T 4675.6 出口葡萄酒中葡萄糖、果糖和蔗糖的测定；
- SN/T 4675.7 出口葡萄酒中乙醛的测定 气相色谱-质谱法；
- SN/T 4675.8 出口葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定 液相色谱法；
- SN/T 4675.9 出口葡萄酒中二甘醇的测定 气相色谱-质谱法；
- SN/T 4675.10 出口葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的测定 液相色谱-质谱/质谱法；
- SN/T 4675.11 出口葡萄酒中 7 种花色苷的测定 超高效液相色谱法；
- SN/T 4675.12 出口葡萄酒中溶菌酶的测定 液相色谱法；
- SN/T 4675.13 出口葡萄酒中 2,4,6-三氯甲苯醚残留量的测定 气相色谱-质谱法；
- SN/T 4675.14 出口葡萄酒中纳他霉素的测定 液相色谱-质谱/质谱法；
- SN/T 4675.15 出口葡萄酒中水杨酸、脱氢乙酸和对氯苯甲酸的测定 液相色谱法；
- SN/T 4675.16 出口葡萄酒中富马酸的测定 液相色谱-质谱/质谱法；
- SN/T 4675.17 出口葡萄酒中丁基锡含量的测定 气相色谱-质谱/质谱法；
- SN/T 4675.18 出口葡萄酒中二硫代氨基甲酸酯残留量的测定 顶空气相色谱法；
- SN/T 4675.19 出口葡萄酒中钠、镁、钾、钙、铬、锰、铁、铜、锌、砷、硒、银、镉、铅的测定；
- SN/T 4675.20 出口葡萄酒中稀土元素的测定 电感耦合等离子体质谱法；
- SN/T 4675.21 出口葡萄酒中可溶性无机盐的测定 离子色谱法；
- SN/T 4675.22 出口葡萄酒中总二氧化硫的测定 比色法；
- SN/T 4675.23 出口葡萄酒及葡萄汁中氨氮的测定 连续流动分析仪法；
- SN/T 4675.24 出口葡萄酒福林-肖卡指数的测定 分光光度计法；
- SN/T 4675.25 出口葡萄酒颜色的测定 CIE 1976(L\* a\* b\*) 色空间法；
- SN/T 4675.26 出口葡萄酒浊度的测定 散射光法；
- SN/T 4675.27 出口葡萄酒碱性灰分的测定；
- SN/T 4675.28 出口葡萄酒细菌、霉菌及酵母的计数；
- SN/T 4675.29 出口葡萄酒中酒香酵母检验 实时荧光 PCR 法；
- SN/T 4675.30 出口葡萄酒中拜氏接合酵母检验 实时荧光 PCR 法。

本部分为 SN/T 4675 的第 11 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位：中华人民共和国北京出入境检验检疫局、中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：刘莹、韩深、关丽军、王珮玥、梁娜娜、别玮、槐硕、刘青、李志勇。

## 出口葡萄酒中 7 种花色苷的测定 超高效液相色谱法

### 1 范围

SN/T 4675 的本部分规定了葡萄酒中花翠素-3-O-葡萄糖苷、花青素-3-O-葡萄糖苷、甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷、甲基花青素-3-O-葡萄糖苷、二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷、花翠素-3,5-O-双葡萄糖苷以及花青素-3,5-O-双葡萄糖苷等 7 种花色苷的超高效液相色谱测定方法。

本部分适用于红葡萄酒、桃红葡萄酒、带色起泡葡萄酒中花色苷的测定。

### 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 方法提要

样品中的花色苷直接采用超高效液相色谱分离和测定。采用甲酸-水溶液和甲酸-乙腈溶液作为流动相进行梯度洗脱,在 518 nm 波长条件下进行检测,外标法定量。

### 4 试剂和材料

除另有说明外,所用试剂均为色谱纯,水采用 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ )。

4.2 甲酸( $\text{HCOOH}$ )。

4.3 甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ )。

4.4 2%甲酸-水溶液(体积比):2 mL 甲酸溶解于 100 mL 水中。

4.5 花色苷标准物质:纯度 $\geq 95\%$ ,基本信息参见附录 A。

4.6 花色苷标准储备溶液:分别称取花色苷标准品(4.5)10 mg(精确至 0.1 mg),用甲醇(4.3)溶解、定容至 10 mL,配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液。溶液转移至棕色玻璃瓶中后,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内避光保存。

4.7 混合标准中间溶液:取标准储备液适量(4.6),混合后用甲酸-水溶液(4.4)配制成 500 g/mL 的混合标准中间溶液, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下避光保存,备用。

4.8 混合标准工作溶液:准确移取适量的花色苷混合标准中间液(4.7)于具塞容量瓶中,用甲酸-水溶液(4.4)定容至刻度稀释成 1 g/mL、2 g/mL、5 g/mL、10 g/mL、25 g/mL、50 g/mL 及 100 g/mL 浓度水平的混合标准工作溶液,摇匀,使用前配制。

### 5 仪器和设备

5.1 超高效液相色谱仪:配有紫外或二极管阵列检测器。



5.2 色谱柱:五氟苯基类表面多孔微粒色谱柱(poroshe11 120 PFP<sup>1)</sup>),柱长 100 mm,柱内径 3 mm,填料粒径 2.7  $\mu\text{m}$ ;或同等性能的色谱柱。

5.3 分析天平:精度为 0.1 mg。

5.4 具塞容量瓶:5 mL,10 mL。

5.5 移液器:0.5  $\mu\text{L}$ ~10  $\mu\text{L}$ ,20  $\mu\text{L}$ ~200  $\mu\text{L}$ ,100  $\mu\text{L}$ ~1 000  $\mu\text{L}$ 。

5.6 涡旋振荡器。

5.7 高速离心机:转速 $\geq 10\,000$  r/min。

5.8 玻璃烧杯:250 mL。

5.9 具塞塑料离心管:2 mL。

## 6 测定步骤

### 6.1 样品处理

将葡萄酒样品摇匀。倒取约 20 mL 样品于洁净的玻璃烧杯(5.8)中,再用移液器量取 2 mL 样品至具塞塑料离心管(5.9)中,于 12 000 r/min 离心 120 s。取出后,用微量取液器吸取清液约 1 mL 于进样小瓶中,待液相色谱分析。

起泡葡萄酒需预先脱气。将 100 mL 试样倒入带排气塞的瓶中,在室温下使用水平振荡器或超声波水浴脱气,直至无气泡逸出。

### 6.2 测定

#### 6.2.1 色谱条件

- 流动相:A 液,2%甲酸-水溶液(体积比);B 液,2%甲酸-乙腈溶液(体积比)。
- 梯度洗脱:参见表 1。
- 流动相流速:0.4 mL/min。
- 柱温:40  $^{\circ}\text{C}$ 。
- 进样体积:5  $\mu\text{L}$ 。
- 检测波长:518 nm。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	96	4
10	85	15

#### 6.2.2 色谱分析

根据设定的色谱条件(6.2.1),取花色苷系列混合标准工作溶液(4.8)及样品(6.1)等体积进样测定,并绘制峰面积对应浓度含量的标准曲线。样品中待测物应在标准曲线范围之内,如果含量超出标准曲线范围,应对样品用 2%甲酸-水溶液进行适当稀释后测定。花色苷的超高效液相色谱图参见附录 B 中图 B.1,参考保留时间参见附录 B 中表 B.1。在相同试验条件下,样品与标准品工作溶液中待测物质的

1) 给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可,如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

色谱峰相对保留时间的相对偏差在±2.5%以内。

6.2.3 空白试验

用水代替样品,按 6.1 步骤做空白试验。应确认不含有干扰被测组分的物质。

7 结果计算和表述

样品中花色苷含量按式(1)计算获得,计算结果应扣除空白值,并保留两位有效数字。

$$X = \frac{c \times f \times 1\,000}{1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 样品中待测物的含量,单位为毫克每升(mg/L);
  - c —— 由外标法标准曲线得到的样品中待测物的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
  - f —— 样品的稀释倍数。
- 结果保留 3 位有效数字。

8 方法的定量限、精密度和回收率

8.1 定量限

花翠素-3,5-O-双葡萄糖苷的定量限为 5 mg/L,花青素-3,5-O-双葡萄糖苷、花翠素-3-O-葡萄糖苷、花青素-3-O-葡萄糖苷、甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷、甲基花青素-3-O-葡萄糖苷、二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷等 6 种花色苷的定量限为 1 mg/L。

8.2 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值不得超过算术平均值的 10%。

8.3 回收率

红葡萄酒、桃红葡萄酒和带色起泡葡萄酒中 7 种花色苷的添加水平及回收率数据见表 2。

表 2 红葡萄酒、桃红葡萄酒和带色起泡葡萄酒中 7 种花色苷的添加水平及回收率数据表

化合物	添加水平 mg/L	回收率范围及精密度 %					
		红葡萄酒 回收率	RSD	桃红葡萄酒 回收率	RSD	带色起泡葡萄 酒回收率	RSD
花翠素-3,5-O- 双葡萄糖苷	10	90.4~95.8	2.3	90.3~94.8	1.7	93.0~95.3	1.0
	25	84.7~87.7	1.2	85.0~87.9	1.2	85.0~87.7	1.1
	50	87.0~90.0	1.5	87.0~89.8	1.3	87.8~89.7	1.0
花青素-3,5-O- 双葡萄糖苷	2	88.3~93.7	2.8	86.8~94.5	2.9	85.9~94.1	3.9
	5	97.7~99.6	0.7	96.3~99.5	1.3	96.4~98.9	1.0
	10	80.3~87.3	3.1	80.5~86.0	2.7	80.2~86.8	2.7

SN/T 4675.11—2016

表 2 (续)

化合物	添加水平 mg/L	回收率范围及精密度 (%)					
		红葡萄酒 回收率	RSD	桃红葡萄酒 回收率	RSD	带色起泡葡萄 酒回收率	RSD
花翠素-3-O- 葡萄糖苷	2	88.3~94.9	0.6	87.2~91.3	1.7	85.6~93.1	2.7
	5	96.2~99.9	0.7	97.2~99.7	1.1	96.2~99.7	1.4
	10	83.8~96.0	0.8	80.6~85.2	2.0	81.1~87.8	3.7
花青素-3-O- 葡萄糖苷	2	85.4~94.9	3.8	85.9~92.7	2.6	85.9~89.7	1.6
	5	96.5~99.3	1.1	98.1~99.6	0.5	97.8~99.8	0.8
	10	80.2~87.2	3.6	81.4~86.4	2.7	81.0~85.8	2.4
甲基花翠素-3-O- 葡萄糖苷	2	89.1~94.7	2.8	89.1~94.2	0.7	87.3~93.4	2.4
	5	96.3~97.7	0.6	96.3~99.2	0.6	97.2~99.5	0.8
	10	80.3~87.0	3.1	82.1~86.4	1.6	80.7~87.4	2.9
甲基花青素-3-O- 葡萄糖苷	2	87.2~90.8	0.5	85.7~90.3	1.9	85.3~93.5	1.1
	5	96.8~99.9	0.8	96.2~98.6	1.0	97.2~99.2	0.4
	10	80.0~87.5	2.2	82.1~86.7	2.0	80.4~87.5	2.6
二甲花翠素-3-O- 葡萄糖苷	10	90.1~95.6	0.7	91.4~95.7	1.8	90.0~95.5	2.0
	25	85.7~87.4	0.4	85.0~87.6	1.4	85.9~87.8	0.9
	50	87.1~89.6	0.8	87.1~89.9	1.1	87.3~89.5	0.8



附录 A  
(资料性附录)  
标准物质的基本信息表

标准物质的基本信息表见表 A.1。

表 A.1 标准物质的基本信息表

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对 分子量
花翠素-3-O-氯化葡萄糖苷	Delphinidin-3-O-glucoside chloride	6906-38-3	$C_{21}H_{21}O_{12}Cl$	500.90
花青素-3-O-氯化葡萄糖苷	Cyanidin-3-O-glucoside chloride	7084-24-4	$C_{21}H_{21}O_{11}Cl$	484.84
甲基花翠素-3-O-氯化葡萄糖苷	Petunidin-3-O-glucoside chloride	6988-81-4	$C_{22}H_{23}O_{12}Cl$	514.86
甲基花青素-3-O-氯化葡萄糖苷	Peonidin-3-O-glucoside chloride	6906-39-4	$C_{22}H_{23}O_{11}Cl$	498.86
二甲花翠素-3-O-氯化葡萄糖苷	Malvidin-3-O-glucoside chloride	7228-78-6	$C_{23}H_{25}O_{12}Cl$	528.87
花翠素-3,5-O-氯化双葡萄糖苷	Delphinidin-3,5-O-diglucoside chloride	17670-06-3	$C_{27}H_{31}O_{17}Cl$	662.98
花青素-3,5-O-氯化双葡萄糖苷	Cyanidin-3,5-O-diglucoside chloride	2611-67-8	$C_{27}H_{31}O_{16}Cl$	646.98

SN/T 4675.11—2016

附 录 B  
(资料性附录)

超高效液相色谱图及花色苷保留时间

花色苷标准品色谱图见图 B.1。

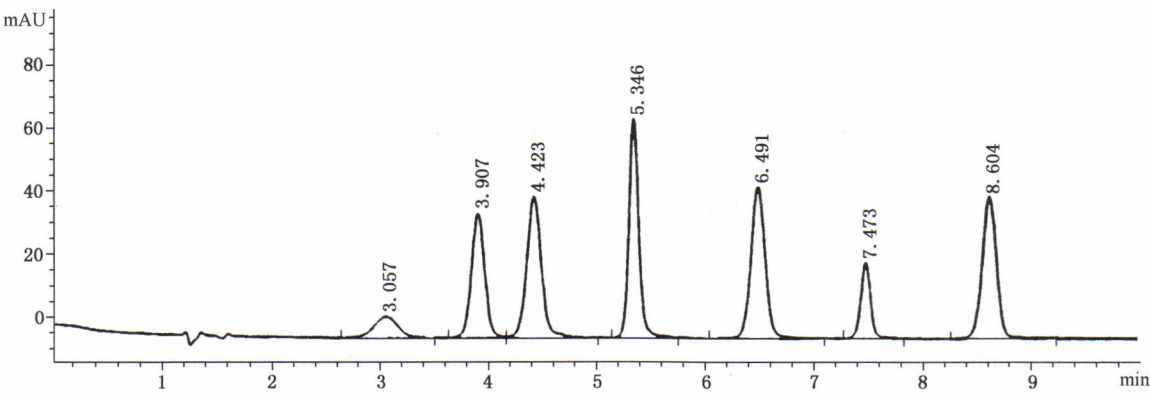


图 B.1 花色苷标准品色谱图

花色苷色谱参考保留时间见表 B.1。

表 B.1 花色苷色谱参考保留时间

化 合 物	保留时间/min
花翠素-3,5-O-双葡萄糖苷	3.05
花青素-3,5-O-双葡萄糖苷	3.91
花翠素-3-O-葡萄糖苷	4.42
花青素-3-O-葡萄糖苷	5.34
甲基花翠素-3-O-葡萄糖苷	6.49
二甲花翠素-3-O-葡萄糖苷	7.47
甲基花青素-3-O-葡萄糖苷	8.60



中华人民共和国出入境检验检疫  
行 业 标 准  
出口葡萄酒中 7 种花色苷的测定  
超高效液相色谱法  
SN/T 4675.11—2016

\*

中国标准出版社出版  
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)  
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)  
总编室:(010)68533533

网址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 16 千字  
2017 年 12 月第一版 2017 年 12 月第一次印刷  
印数 1—500

\*

书号: 155066 · 2-32302 定价 16.00 元



SN/T 4675.11-2016