

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4675.14—2016

出口葡萄酒中纳他霉素的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of natamycin in wine for export—LC-MS/MS 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 2,4,6-三氯苯甲醚残留量的测定 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 14 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

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：中华人民共和国山东出入境检验检疫局、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：崔淑华、程刚、刘莹、张雪琰、李正义、王宇、赵峰、刘青、李志勇。

出口葡萄酒中纳他霉素的测定 液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

SN/T 4675 的本部分规定了出口葡萄酒中纳他霉素的液相色谱串联质谱测定方法。
本部分适用于葡萄酒中纳他霉素的测定。

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。凡是不注明日期的引用文件,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

样品经稀释,高速离心后,用液相色谱-质谱/质谱仪测定并确证,外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外,所用试剂均为优级纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 甲酸。

4.3 5%乙腈-0.1%甲酸溶液:准确量取 50 mL 乙腈、1 mL 甲酸,用水定容至 1 L,混匀后备用。

4.4 0.1%甲酸-水溶液:准确量取 1 mL 甲酸,用水定容至 1 L,混匀后备用。

4.5 纳他霉素标准品(CAS 编号 7681-93-8,分子量:665.73):纯度 $\geq 89.9\%$ 。

4.6 纳他霉素标准储备溶液:准确称取适量纳他霉素标准品,用甲醇配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液。

4.7 纳他霉素标准中间溶液:准确吸取适量的纳他霉素标准储备溶液(4.6),用 5%乙腈-0.1%甲酸溶液(4.3)配制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间溶液。

4.8 纳他霉素标准工作溶液:准确吸取适量的纳他霉素标准中间溶液(4.7),用 5%乙腈-0.1%甲酸溶液(4.3)逐级稀释纳他霉素标准中间溶液,配制成 0.2 $\mu\text{g/L}$ ~100 $\mu\text{g/L}$ 系列标准工作溶液。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-质谱/质谱仪:三重四极杆串联质谱,配有电喷雾离子源(ESI)。

5.2 分析天平:感量 0.01 mg。

5.3 涡旋混合器。

5.4 离心机:配 2 mL 角转子,转速不低于 15 000 r/min。

5.5 具塞离心管:50 mL、2 mL。

6 测定步骤

6.1 样品处理

检测前,将葡萄酒样品充分摇匀后,起泡酒需事先脱气。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。

准确量取 5 mL 试样于 50 mL 棕色容量瓶中,用 5% 乙腈-0.1% 甲酸溶液(4.3)定容至刻度,混匀后,将溶液移入 2 mL 离心管中,15 000 r/min 离心 5 min 后,取上清液,待液相色谱-质谱/质谱测定。

6.2 测定

6.2.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C_{18} 柱, 100 mm×2.1 mm(内径), 粒径 1.8 μ m, 或相当者;
- b) 流动相: A(乙腈), B(0.1% 甲酸水溶液)。梯度洗脱条件见表 1;

表 1 液相色谱洗脱条件

时间/min	A/%	B/%
0.0	5	95
0.5	5	95
3.5	90	10
5.0	90	10
5.1	5	95
7.0	5	95

- c) 进样量: 10 μ L;
- d) 柱温: 30 $^{\circ}$ C;
- e) 流速: 0.3 mL/min。

6.2.2 液相色谱-质谱/质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源(ESI);
- b) 扫描方式: 正离子扫描;
- c) 监测方式: 多反应监测(MRM);
- d) 其它质谱参考条件参见附录 A 中表 A.1 和表 A.2。

6.2.3 液相色谱-质谱/质谱测定

按照确定的液相色谱-串联质谱条件测定样品和标准工作溶液(4.8), 响应值均应在仪器检测的线性范围内, 以色谱峰面积按外标法定量。在上述仪器条件下, 纳他霉素的参考保留时间为 3.0 min。液相色谱-串联质谱多反应监测色谱图参见附录 B 图 B.1。

6.2.4 定性确证

按照上述条件测定样品和标准工作溶液, 如果检测的色谱峰保留时间与标准工作溶液一致, 允许偏差小于 $\pm 2.5\%$; 定性离子对的相对丰度与浓度相当标准工作溶液的相对丰度一致, 相对丰度偏差不超

过表 2 的规定,则可判断样品中存在相应的被测物。

表 2 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	+20	±25	±30	±50

6.2.5 定量测定

本部分中液相色谱-串联质谱采用外标-校准曲线法定量测定。为保证所测样品中纳他霉素响应值均在仪器的线性范围内,当样品液中纳他霉素含量超出线性范围时,应将样品液稀释一定倍数,使样品液中纳他霉素响应值在仪器的线性范围内。

6.2.6 空白实验

除不加试样外,均按上述测定步骤进行。

7 结果计算和表述

试样中那他霉素含量由色谱数据处理软件或按式(1)计算获得,计算结果应扣除空白值,并保留三位有效数字:

$$X = \frac{c \times V_1 \times 1\,000}{V_2 \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

- 式中:
- X —— 试样中纳他霉素含量,单位为毫克每升(mg/L);
 - c —— 从标准工作曲线得到的试样溶液中纳他霉素的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
 - V₁ —— 样品溶液定容体积,单位为毫升(mL);
 - V₂ —— 样品溶液所代表试样的体积,单位为毫升(mL)。

8 方法的定量限和回收率

8.1 定量限(LOQ)

本方法定量限为 0.005 mg/L。

8.2 回收率

在三个添加浓度水平下,不同基质中纳他霉素添加回收率为 82.4%~115.8%,添加水平及回收率数据参见附录 C。

SN/T 4675.14—2016

附录 A¹⁾

(资料性附录)

质谱参考条件

离子源参数见表 A.1。

表 A.1 离子源参数

仪器参数	参数值
毛细管电压 Capillary	4 000 V
雾化气压力 Neublizer	40 psi(氮气)
干燥气温度 Gas Temp	350 ℃
干燥气流速 Gas Flow	6.0 L/min(氮气)
鞘气温度 Sheath gas Temp	350 ℃
鞘气流速 Sheath gas Flow	10.0 L/min(氮气)

多反应监测条件见表 A.2。

表 A.2 多反应监测条件

化合物	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	裂解电压/V	碰撞能量/eV
纳他霉素	666.3	503.3*	120	4
		485.2		10
注：* 离子用于定量。				

1) 非商业性声明：附录表 A 所列参数是在 Aglient 6460 质谱仪上完成的，此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考，并不涉及商业目的，鼓励标准使用者尝试采用不同厂家或型号的仪器。

附录 B
(资料性附录)

液相色谱-质谱/质谱法纳他霉素标准品色谱图

液相色谱-质谱/质谱法纳他霉素标准品色谱图见表 B.1。

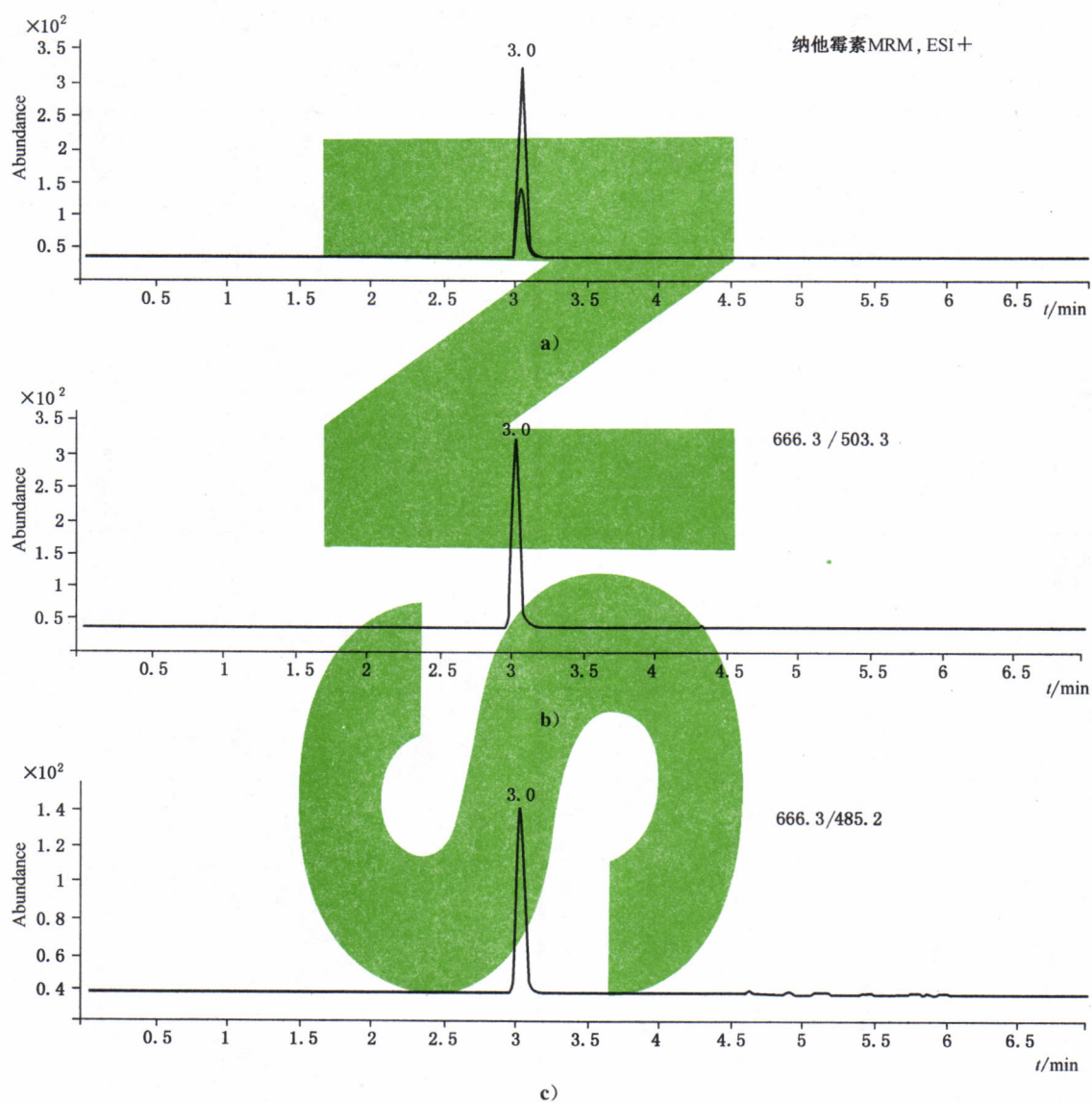


图 B.1 纳他霉素标准物质(0.01 mg/L)的多反应监测(MRM)色谱图

SN/T 4675.14—2016

附 录 C

(资料性附录)

不同基质中纳他霉素不同添加水平回收率数据

不同基质中纳他霉素不同添加水平回收率数据见表 C.1。

表 C.1 不同基质中纳他霉素不同添加水平回收率数据

样品基质	添加水平/(mg/L)	回收率范围/%	精密度/%
红葡萄酒	0.005	82.4~101.4	6.8
	10.0	86.4~98.4	5.2
	20.0	81.9~92.5	5.1
白葡萄酒	0.005	87.4~104.5	7.1
	10.0	91.4~110.0	6.5
	20.0	82.4~101.0	7.3
起泡葡萄酒	0.005	82.1~96.8	7.1
	10.0	86.7~101.6	6.6
	20.0	90.5~99.6	4.2

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
出口葡萄酒中纳他霉素的测定
液相色谱-质谱/质谱法
SN/T 4675.14—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

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11月第一版 2017年11月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155066·2-32427 定价 16.00 元



SN/T 4675.14-2016