

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4675.16—2016

出口葡萄酒中富马酸的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of fumaric acid 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《出口葡萄酒品质分析方法》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 16 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：中华人民共和国上海出入境检验检疫局、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：陈章庭、汪侃晨、席静、方晓明、杨振宇、倪昕路、樊彦莉、章孟凡、陈婷、王诚、郭德华、刘青、李志勇。

出口葡萄酒中富马酸的测定 液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

SN/T 4675 的本部分规定了葡萄酒中富马酸的液相色谱-质谱/质谱检测方法。
本部分适用于葡萄酒中富马酸的检测。

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

样品中富马酸用流动相提取,高速离心后(或过滤膜),供液相色谱/串联质谱检测,外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明,所有试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲醇:色谱纯。

4.2 甲酸:色谱纯。

4.3 甲酸溶液(0.1%):1 000 mL 水中加入 1 mL 甲酸(4.2)。

4.4 标准物质:富马酸(CAS 编号:110-17-8);纯度 99.5%。

4.5 标准储备液(1.0 mg/mL):准确称取 50.7 mg 富马酸标准品(4.4)于 50 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度。该溶液在 4 °C 下避光保存,可使用 3 个月。

4.6 标准中间液(10 μ L/mL):准确移取 0.50 mL 富马酸标准储备液(4.5)于 50 mL 容量瓶中,用流动相稀释并定容至刻度,得到浓度为 10 μ g/mL。该溶液在 4 °C 下避光保存,可使用 3 个月。

4.7 标准工作溶液:准确移取适量富马酸标准中间液(4.6)于 50 mL 容量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,得到浓度分别为 0.10 μ g/mL、0.20 μ g/mL、0.30 μ g/mL、0.50 μ g/mL、0.80 μ g/mL、1.0 μ g/mL、5.0 μ g/mL。该溶液在 4 °C 下避光保存,可使用 3 个月。

4.8 针式滤器(0.22 μ m 亲水 PTFE)或类似滤器。

4.9 10 mL 容量瓶。

5 仪器和设备

5.1 超高效液相色谱-串联质谱仪:带电喷雾电离源(ESI)。

5.2 天平:感量 0.1 mg。

5.3 漩涡振荡器。

- 5.4 离心机: 8 000 r/min。
- 5.5 移液器: 1 mL。
- 5.6 水平振荡器。
- 5.7 超声波清洗器。

6 分析步骤

6.1 试样制备

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,直至无气体逸出。

6.2 提取

准确移取 1 mL 试样于洁净的 10 mL 容量瓶中,用流动相[6.3.1b)]定容至 10.0 mL。若样液呈浑浊,以 8 000 r/min 左右离心 5 min。上清液经 0.22 μ m 滤器(4.8)过滤,滤液作为待测样液。

6.3 测定条件

6.3.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: T3 色谱柱: 2.1 mm \times 50 mm, 粒径 1.8 μ m, 或相当者;
- b) 流动相: 甲醇+0.1%甲酸溶液(4.3)=1.5+98.5, 等度洗脱;
- c) 流速: 200 μ L/min;
- d) 柱温: 30 $^{\circ}$ C;
- e) 进样量: 5 μ L。

6.3.2 质谱条件

- a) 离子化模式: 电喷雾电离(ESI-)负离子模式;
- b) 质谱扫描方式: 多反应监测(MRM);
- c) 其他参考质谱条件参见附录 A。

6.4 液相色谱-质谱/质谱测定

6.4.1 定性测试

被测组分选择 1 个母离子, 2 个以上子离子, 在相同的试验条件下, 样品中待测物质的保留时间与标准溶液中对应的保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内; 且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较, 若偏差不超过表 1 规定的范围, 则可判定样品中存在对应的待测物。

表 1 定性确证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% | $\leq 10\%$ |
|---------|------------|------------|------------|-------------|
| 允许的相对偏差 | $\pm 20\%$ | $\pm 25\%$ | $\pm 30\%$ | $\pm 50\%$ |

6.4.2 定量测试

依次测定标准系列工作液, 绘制峰面积对标准溶液浓度的标准工作曲线, 用标准曲线对样品进行定

量,样品溶液中富马酸的响应值均应在仪器测定的线性范围内,超过线性范围的稀释后再进样。在上述色谱条件和质谱条件下,富马酸的参考保留时间及标准品多反应检测(MRM)色谱图参见图 B.1。

6.5 空白试验

除不加试样外,均按上述操作步骤进行。

7 结果的计算和表述

采用外标法定量,按式(1)计算被测物的含量。计算结果应扣除空白值,结果保留两位有效数字:

$$X_i = \frac{c_i \times V \times f}{m_i} \dots\dots\dots (1)$$

- 式中:
- X_i ——试样中被测组分残留量,单位为毫克每升(mg/L);
 - c_i ——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度,单位为微克每升(μ g/L);
 - V ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);
 - f ——稀释因子;
 - m_i ——最终样液所代表的试样量,单位为克(g)。

8 定量限和回收率

8.1 定量限

本方法中富马酸的定量限为 2.5 mg/L。

8.2 回收率

不同基质中富马酸在不同添加水平下的回收率试验数据见表 2。

表 2 基质在不同添加水平下的回收率试验数据表

| 样品名称 | 添加水平/(mg/L) | 回收率范围/% | 精密度/% |
|---------|-------------|-------------|-------|
| 干红葡萄酒 | 2.5 | 91.1~97.2 | 2.60 |
| | 5.0 | 84.8~91.1 | 2.49 |
| | 7.5 | 89.9~95.5 | 2.02 |
| | 25 | 90.6~102.2 | 4.98 |
| 半干桃红葡萄酒 | 2.5 | 84.8~95.5 | 3.62 |
| | 5.0 | 91.2~96.6 | 2.04 |
| | 7.5 | 96.1~105.2 | 3.85 |
| | 25 | 93.9~103.6 | 3.59 |
| 甜白葡萄酒 | 2.5 | 89.0~101.1 | 5.19 |
| | 5.0 | 92.0~100.3 | 3.76 |
| | 7.5 | 100.5~106.5 | 2.27 |
| | 25 | 89.8~97.8 | 3.18 |

SN/T 4675.16—2016

附录 A
(资料性附录)
质谱参考参数¹⁾

A.1 质谱参考参数:

- a) ESI 负离子模式:多反应监测(MRM);
- b) 电喷雾电压(IS):-3 500 V;
- c) 喷雾温度:100 ℃;
- d) 去溶剂气:氮气;
- e) 毛细管温度:250 ℃;
- f) 碰撞气:氩气,纯度≥99.99%;
- g) 碰撞压力:0.5 Arb;
- h) 碰撞电压:10 V;
- i) 监测离子对见表 A.1;
- j) MRM 模式检测: m/z 115>71(定量离子), m/z 115>27(定性离子)。

表 A.1 富马酸保留时间、定性定量离子对

| 分析物名称 | 保留时间/min | 定性离子对(m/z) | 定量离子对(m/z) |
|-------|----------|----------------|----------------|
| 富马酸 | 1.93 | 115>27 | 115>71 |

1) 非商业性声明:附录 A 所列参考质谱条件是在 Thermo Scientific 的 TSQ QuantumUltra 型液质联用仪上完成的,此处列出试验用仪器型号仅为提供参考,并不涉及商业目的,鼓励标准使用者尝试不同厂家或型号的仪器。

附录 B

(资料性附录)

富马酸标准物质的多反应监测(MRM)色谱图

富马酸标准物质的多反应监测(MRM)色谱图见图 B.1~图 B.3。

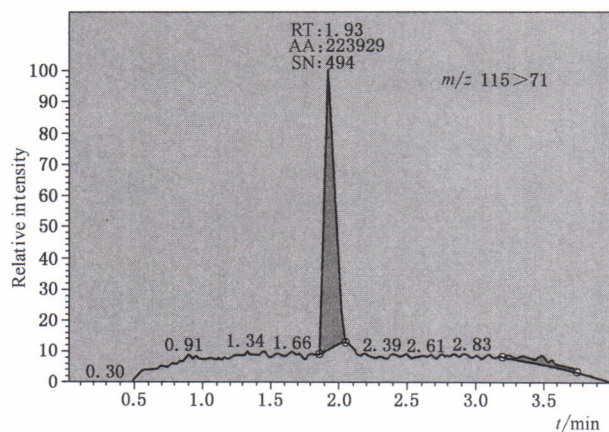
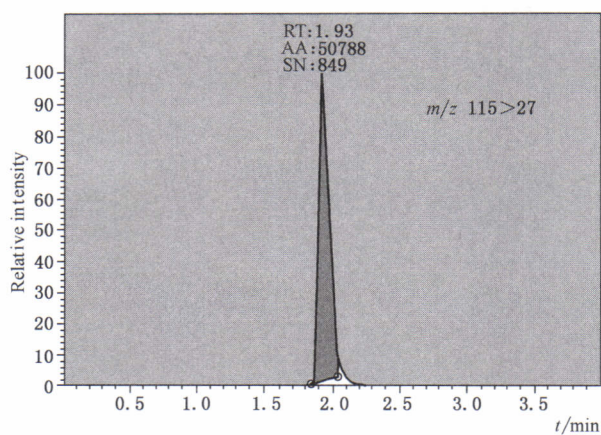
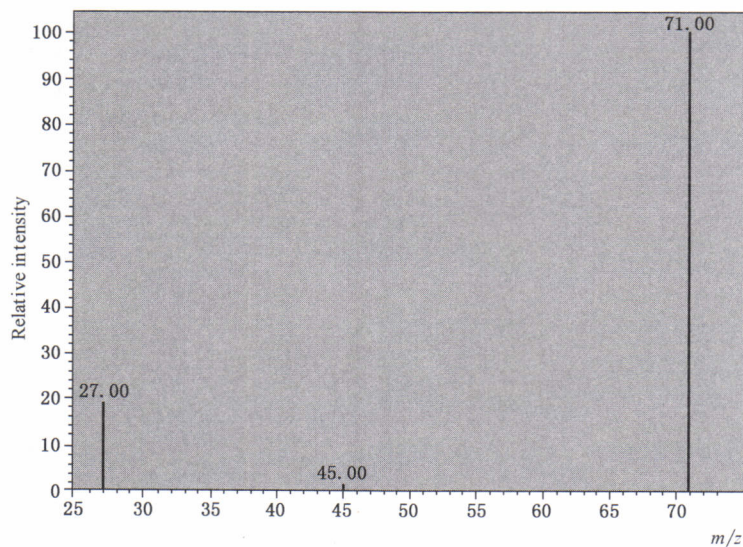
图 B.1 m/z 115 > 71 色谱图(0.8 $\mu\text{g/mL}$)图 B.2 m/z 115 > 27 色谱图(0.8 $\mu\text{g/mL}$)

图 B.3 定性离子相对丰度图

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
出口葡萄酒中富马酸的测定
液相色谱-质谱/质谱法
SN/T 4675.16—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 14 千字
2017年12月第一版 2017年12月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155066·2-32420 定价 16.00 元



SN/T 4675.16-2016