

团体标准

T/ NAIA×××-××××

葡萄酒中 2 种非法工业着色剂的测定
液相色谱-质谱/质谱法

Determination of 2 Illegal Industrial Colorants in Wine

Liquid chromatography-mass spectrometry

2026-××-××发布

2026-××-××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。

本文件由宁夏农产品质量标准与检测技术研究所提出。

本文件由宁夏化学分析测试协会归口并组织实施。

本文件起草单位:宁夏农产品质量标准与检测技术研究所、宁夏贺兰山东麓葡萄酒产业园区管理委员会、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人:陈翔、葛谦、杨静、闫玥、开建荣、李彩虹、张静、赵丹青、刘霞、刘子雨、张小飞、马丹阳、文云。

本文件为首次发布。

葡萄酒中 2 种非法工业着色剂的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了葡萄酒中 2 种非法工业着色剂的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本文件适用于葡萄酒中苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV、罗丹明 B 的液相色谱-质谱/质谱法测定。

本文件的方法定量限：苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV、罗丹明 B 的方法定量限为 0.001mg/kg。

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 术语和定义

本文件没有需要规定的术语和定义。

4 原理

试样中非法工业着色剂用乙腈震荡提取盐析，提取液用分散固相萃取净化，用液相色谱-质谱/质谱仪检测和确证，外标法定量。

5 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。

5.1 乙腈（CH₃CN，CAS 号：75-05-8）：色谱纯。

5.2 氯化钠（NaCl，CAS 号：7647-14-5）。

5.3 无水硫酸镁（MgSO₄，CAS 号：7487-88-9）。

5.4 柠檬酸钠二水合物（C₆H₅Na₃O₇·2H₂O，CAS 号：6132-04-3）。

5.5 柠檬酸二钠倍半合物（C₆H₆Na₂O₇·1.5H₂O，CAS 号：6132-05-4）。

5.6 苏丹红 I（C₁₆H₁₂N₂O，CAS 号：842-07-9）、苏丹红 II（C₁₈H₁₆N₂O，CAS 号：3118-97-6）、苏丹红 III（C₂₂H₁₆N₄O，CAS 号：85-86-9）、苏丹红 IV（C₂₄H₂₀N₄O，CAS

号：85-83-6）、罗丹明 B ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ ，CAS 号：81-88-9)。

5.7 N-丙基乙二胺 (PSA, $C_5H_{14}N_2$ ，CAS 号：111-39-7)。

5.8.1 标准储备溶液：将各标准溶液 (100mg/L) 用乙腈稀释，配制成 10 mg/L 标准储备液，避光-18 °C 保存，有效期 1 年。

5.8.2 混合标准中间溶液 根据需要分别取工业着色剂的标准储备液，用乙腈稀释成 1.0 mg/L 标准中间溶液，-18 °C 下保存。

5.8.3 基质混合标准工作溶液：根据需要分取适量混合标准溶液，氮气吹干，加入一定量的空白基质溶液，混匀。基质混合标准工作溶液现用现配。

5.9 0.1%甲酸溶液 (体积分数)：量取 1mL 甲酸，用水定容至 1000mL。

5.10 滤膜：0.45 μm ，有机相。

5.11 离心管：50 mL，聚四氟乙烯。

6 仪器与设备

6.1 液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源 (ESI)。

6.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。

6.3 离心机：4000 r/min。

6.4 氮吹仪：可控温。

6.5 涡旋混合器。

7 分析步骤

7.1 试样的制备

葡萄酒样品于 4 °C 冷藏避光保存。试验时将样品取出，在密封状态下自然回温至室温 (20~25 °C)，待温度稳定后，轻轻翻转或摇动使其均匀，备用。

7.2 试样提取及净化

称取葡萄酒试样 5 g (精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管，加入 10.0mL 乙腈，震荡提取 30min，加入 4g 无水硫酸镁、1g 氯化钠、1g 柠檬酸钠二水合物、0.5g 柠檬酸氢二钠倍半水合物，剧烈振摇 1min，4000r/min 离心 5min。分取上清液 1mL 于盛有净化材料离心管中 (每毫升提取液用 20mgPSA)，涡旋 1min，4000r/min 离心 5min，上清液过 0.45 μm 微孔滤膜，待测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱：Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm \times 100 mm，1.7 μm)，或性能相当者；

- b) 柱温: 40 °C;
- c) 流速: 0.4 mL/min;
- d) 流动相: A 相为 0.1%甲酸溶液 (5.6), B 相为乙腈, 梯度洗脱条件见表 1;
- e) 进样量: 2.0 μ L。

表 1 流动相及其梯度条件 (V_A+V_B)

时间(min)	流 速(mL/ min)	V_A (%)	V_B (%)
0.0	0.4	40	60
7.0	0.4	10	90
10.0	0.4	10	90
11.0	0.4	40	60
12.0	0.4	40	60

7.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源类型: 电喷雾离子源;
- b) 扫描模式: 正离子模式, 选择离子监测 (SRM);
- c) 喷雾电压: 5500 V;
- d) 离子源温度: 500 °C;
- e) 气帘气 (CUR): 20 psi;
- f) 雾化气 (GS1): 50 psi;
- g) 辅助加热气 (GS2): 50 psi;
- h) 采集时间: 12.0 min;

表 2 非法工业着色剂的选择离子监测分析参数

序号	中文名	英文名	保留时间/min	离子对I/m/z	碰撞能量/eV	离子对II/m/z	碰撞能量/eV
1	苏丹红 I	SudanI	5.35	249.1/156.0	20	249.1/93.1	30
2	苏丹红 II	SudanII	7.63	277.0/121.1	24	277.0/156.0	19
3	苏丹红 III	SudanIII	9.05	353.1/77.0	31	353.1/196.0	31
4	苏丹红 IV	SudanIV	10.64	381.1/91.0	30	381.1/224.0	28
5	罗丹明 B	Rhodamine B	2.29	443.2/355.0	63	443.2/399.0	42

7.3.3 定性测定

在 7.3.1、7.3.2 条件下, 被测试样中检出色谱峰的保留时间与相应标准品色谱峰的保留时间相一致, 扣除背景的样品质谱图中, 定性和定量离子均出现, 相对丰度比与质量浓度相当的标准工作溶液相对丰度一致, 且相对丰度允许偏差不超过表 1 规定的范围, 则可判断样品中存在目标物。

表 3 定性确证相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	20%至 50%	10%至 20%	\leq 10%
允许的相对偏差	\pm 20%	\pm 25%	\pm 30%	\pm 50%

7.3.4 定量测定

采用外标-校准曲线法定量测定。定量采用空白基质混合标准工作溶液，保证所测样品中组分的响应值均在仪器的线性范围内。

7.4 平行试验

按上述步骤对同一试样进行平行试验测定。

7.5 空白试验

除不加入试样外，其他过程与试样处理相同。

8 结果计算

试样中苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV、罗丹明 B 的含量以质量分数 ω 计，数值以毫克每千克 (mg/kg) 计，按式 (1) 计算：

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ω —— 试样中被测物残留量的数值，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

ρ —— 试样溶液中被测物的含量，单位为毫克每升 (mg/L)；

V —— 试样中加入的提取溶液体积，单位为毫升 (mL)；

m —— 试样质量的数值，单位为克 (g)。

注：计算结果用平行测定结果的算术平均值表示，保留 3 位有效数字。

9 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与其算术平均值的比值（百分率），应符合附录 A 的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法的定量限为 0.0005 mg/kg~0.001 mg/kg（见附录 B）。

10.2 回收率

本方法的添加水平和回收率参见附录 C。

11 色谱图

各目标化合物的选择离子监测 (SRM) 色谱图参见附录 D。

附录 A
(规范性)
实验室内重复性要求

实验室内重复性要求，见表A.1。

表A.1 实验室内重复性要求

被测组分含量 mg/kg	精密度 %
$>0.001 \leq 0.01$	≤ 32
$>0.01 \leq 0.1$	≤ 22
$>0.1 \leq 1$	≤ 18
>1	≤ 14

附录 B

(资料性)

2种非法工业着色剂在葡萄酒中的方法定量限

2种非法工业着色剂在葡萄酒中的方法定量限，见表B.1。

表B.1 2种非法工业着色剂在葡萄酒中的方法定量限

序号	中文名	英文名	方法定量限, mg/kg
1	苏丹红I	SudanI	0.001
2	苏丹红II	SudanII	0.001
3	苏丹红III	SudanIII	0.001
4	苏丹红IV	SudanIV	0.001
5	罗丹明B	RhodamineB	0.0005

附录 C

(资料性)

2种非法工业着色剂在葡萄酒中添加浓度水平及回收率数据

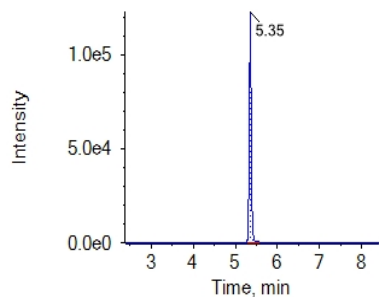
2种非法工业着色剂在葡萄酒中添加浓度水平及回收率数据，见表C.1。

表F.1 2种非法工业着色剂在葡萄酒中添加浓度水平及回收率数据

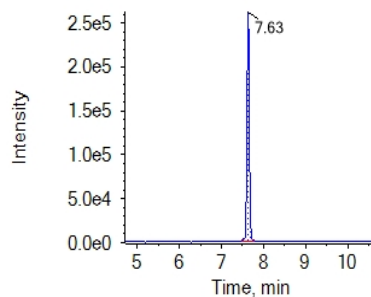
序号	中文名	葡萄酒		
		添加水平		
		0.001mg/kg	0.01mg/kg	0.10mg/kg
1	苏丹红I	95.0	95.0	95.0
2	苏丹红II	94.8	94.8	94.8
3	苏丹红III	100.6	100.6	100.6
4	苏丹红IV	105.6	105.6	105.6
5	罗丹明B	81.1	81.1	81.1

附录 D (资料性)
2种非法工业着色剂选择反应监测 (SRM) 质量色谱图

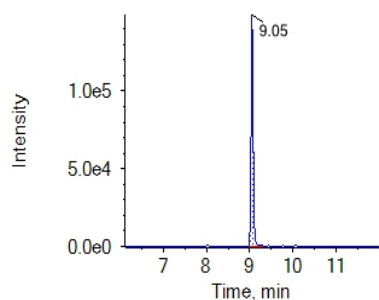
2种非法工业着色剂选择反应监测 (SRM) 质量色谱图, 见图D. 1。



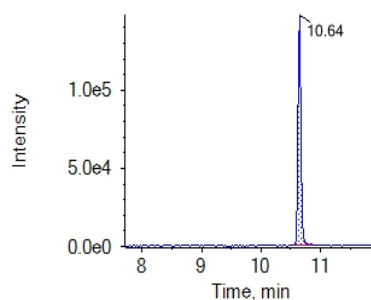
苏丹红I



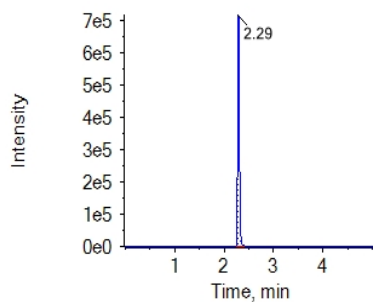
苏丹红II



苏丹红III



苏丹红IV



罗丹明 B