

ICS 67.050

B20

团 体 标 准

T/ NAIA XXX—2024

葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定 高效液 相色谱-串联质谱法

Determination of 5-Hydroxymethylfurfural in Wine by HPLC-MS/MS

2024-XX-XX 发布

2024-XX-XX 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》规定编写。

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：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监管重点实验室（枸杞和葡萄酒质量安全））、宁夏计量质量检验检测研究院、吐鲁番市质量与计量检测所、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：朱燕燕、马桂娟、马雪梅、汤丽华、姚博伟、李强、马利伟、宋钰、刘继辉、王鹏、吕毅、吴明、张小飞。

本文件于 2024 年 XX 月 XX 日首次发布。

葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定 高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的高效液相色谱-串联质谱检测方法。

本文件适用于葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定和确证。

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实验方法

GB/T 18932.18-2003 《蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法 液相色谱-紫外检测法》

NY/T 1332-2007 《乳与乳制品中 5-羟甲基糠醛含量的测定 高效液相色谱法》

DB 61/T 968-2015 《果汁及果脯糖浆中羟甲基糠醛的测定方法 液相色谱法》

T/YNBX 033-2021 《咖啡中 5-羟甲基糠醛的测定 高效液相色谱法》

SN/T 4675.8-2016 《出口葡萄酒中 5-羟甲基糠醛的测定 液相色谱法》

SN/T 1859-2007 《饮料中棒曲霉素和 5-羟甲基糠醛的测定方法 液相色谱-质谱法和气相色谱-质谱法》

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经 20%的甲醇水溶液超声提取，QuEChERS 法净化后，经反相色谱柱分离，以保留时间定性，供高效液相色谱-串联质谱仪测定和确证，外标法定量。

5 试剂和材料

本方法所用的试剂，除另有规定外，均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇：色谱纯。

5.1.2 甲酸：优级纯。

5.1.3 十八烷基（C18）粉末。

5.1.4 20%的甲醇水溶液：取 20mL 甲醇和 80mL 水混合均匀。

5.1.5 10%的甲醇水溶液：取 10mL 甲醇和 90mL 水混合均匀。

5.1.6 含 0.1%甲酸的水溶液：取 0.1mL 甲酸用水定容到 100mL。

5.1.7 含 0.1%甲酸的甲醇溶液：取 0.1mL 甲酸用乙腈定容到 100mL。

5.2 标准品

- 5.2.1 标准品：5-羟甲基糠醛（纯度：99.8%，CAS：67-47-0）。
- 5.2.2 标准储备液（1.0mg/mL）：准确称取 5-羟甲基糠醛标准物质适量，用 20%的甲醇水溶液溶解并定容至 10.0mL 容量瓶中，配制成 1.0mg/mL 的标准储备溶液，保存期限为 3 个月。
- 5.2.3 分别准确吸取不同体积 1.0μg/mL 的标准储备溶液，用空白葡萄酒基质定容至 1.0mL，配制成 5-羟甲基糠醛的浓度分别为 10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、400.0、500.0ng/mL，临用现配。

6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-串联质谱仪：配备电喷雾离子源。
- 6.2 天平：感量 0.1mg 和 0.01g。
- 6.3 涡旋混合器。
- 6.4 高速冷冻离心机：最大转速 10000r/min。
- 6.5 超声波发生器。
- 6.7 色谱柱： C18，2.1mm×100mm，粒径 3.5μm 或性能相当。

7 分析步骤

7.1 试液的提取

准确称取 10.0g（精确至 0.01g）混匀的葡萄酒样品于 50.0mL 具塞离心管中,加入 15mL 的 10% 甲醇水，超声 20 分钟，用 10%甲醇水溶液定容到刻度。移取 10mL 上清液，加入至盛有 100mg C18 粉末的净化管中，涡旋 2min，经 0.22μm 水相滤膜过滤后，上机测定。

7.2 仪器参考条件

7.2.1 液相色谱参考条件

- 7.2.1.1 柱温：25℃。
- 7.2.1.2 流动相：A： 0.1%的甲酸水溶液，B： 0.1%甲酸甲醇溶液；梯度洗脱见表 1。
- 7.2.1.3 流速：0.3mL/min。
- 7.2.1.4 进样量：5μL。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速/（mL/min）	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	0.3	95	5
1.50	0.3	95	5
3.00	0.3	65	35
5.00	0.3	5	95
7.00	0.3	5	95
9.00	0.3	95	5
10.00	0.3	95	5

7.2.2 质谱参考条件

- 7.2.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- 7.2.2.2 扫描方式：正离子扫描。
- 7.2.2.3 检测方式：多反应监测（MRM）。
- 7.2.2.4 鞘气温度：350℃。
- 7.2.2.5 鞘气流速：11.0L/min。
- 7.2.2.6 脱溶剂气温度：300℃。
- 7.2.2.7 脱溶剂气流速：10.0L/min。
- 7.2.2.8 毛细管电压：4000V。
- 7.2.2.7 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞能量等参数参见附录 A。

7.3 定量测定

根据试液中被测物含量情况，选定浓度相近的基质标准混合使用液，基质标准混合使用液和待测试液中被测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。基质标准混合使用液与试液等体积进样测定。标准溶液及试液均按 7.2.1 和 7.2.2 规定的条件进行测定，如果试液中与标准溶液相同的保留时间有峰出现，则对其进行确证。5-羟甲基糠醛标准品的多反应监测（MRM）色谱图参见附录 B，采用基质溶液校准曲线外标法定量。

7.4 定性测定

经确证分析被测物质色谱峰保留时间与标准物质相一致，并且在扣除背景后的样品谱图中，所选择的离子均出现。同时所选择离子的丰度比与标准溶液中相关离子的相对丰度一致，相似度在允许偏差之内（见表 2），则可判定样品中存在对应的被测物。

表 2 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%至 50%	>10%至 20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.5 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 分析结果的表述

试样中 5-羟甲基糠醛的含量按式（1）进行计算：

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000}$$

(1)

式中：

- X ——试样中 5-HMFd 的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；
- c ——由标准曲线计算出的试样溶液浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- V ——试样的最后定容体积，单位为毫升（ mL ）；
- m ——试样质量，单位为克（ g ）。

注：测定结果用平行测定的算数平均值表示，保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

10 其他

当称样量为 10.0g, 定容体积为 50.0mL 时, 5-羟甲基糠醛的定量限为 0.075mg/kg, 检出限为 0.025mg/kg。

附录 A
(资料性附录)

表 A.1 5-羟甲基糠醛的质谱参数

被测物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碎裂电压(v)	碰撞能量(ev)
5-羟甲基糠醛	127.0	109.4*,81.3,53.3	40,40,40	8,8,10

注：*为定量离子

附录 B
(资料性附录)

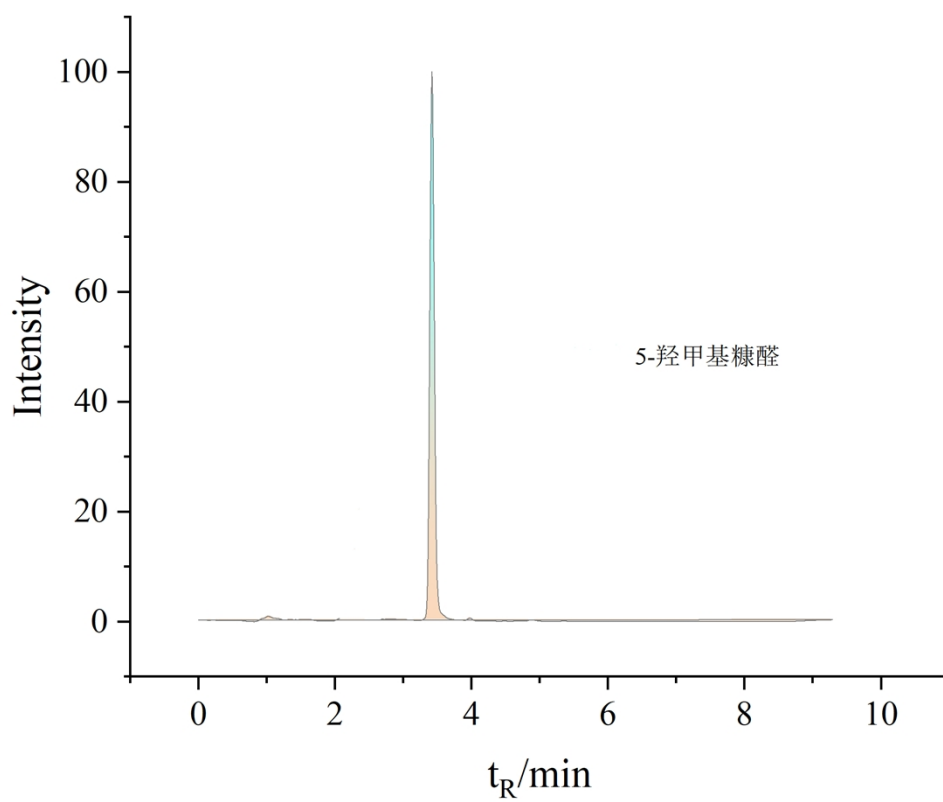


图 B 5-羟甲基糠醛的多反应监测 (MRM) 典型色谱图