

ICS 67.050
B20

团体标准

T/ NAIA XXX—2025

葡萄酒中 5 种羟基苯甲酸类物质的测定 液相色谱-质谱法

Determination of 5 Hydroxybenzoic Acid Compounds
in Wine by LC-MS/MS

2025-XX-XX 发布

2025-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（国家市场监督管理总局重点实验室（枸杞及葡萄酒质量安全））、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：

本文件于 2025 年 XX 月 XX 日首次发布。

葡萄酒中 5 种羟基苯甲酸类物质的测定 液相色谱-质谱法

1 范围

本文件规定了葡萄酒中 5 种羟基苯甲酸类物质的液相色谱质谱检测方法。
本文件适用葡萄酒中 5 种羟基苯甲酸类物质的测定。

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实验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 方法提要

试样用水溶液涡旋振荡提取，经分散固相萃取净化，供液相色谱-质谱仪测定，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 乙腈：色谱纯。

5.1.2 甲醇：色谱纯。

5.1.3 甲酸：优级纯。

5.1.4 N-丙基乙二胺（PSA）粉末：粒径 50 μ m。

5.1.5 0.1%甲酸水溶液：量取 1mL 甲酸，用水定容到 1000mL，摇匀。

5.2 标准品

5 种羟基苯甲酸物质中英文通用名称、CAS 号和化学分子式见附录表 A。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备液（1.0mg/mL）：分别准确称取没食子酸、香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸标准品 10mg（准确至 0.1mg）于 10mL 容量瓶中，分别用甲醇（5.1.2）溶解并定容至刻度，4 $^{\circ}$ C 保存，有效期 3 个月。

5.3.2 混合标准中间液（100 μ g/mL）：分别准确吸取没食子酸、香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸标准储备液各 1.0mL 于 10mL 容量瓶中，用水定容至刻度线，4 $^{\circ}$ C 保存，有效期 1 个月。

5.3.3 混合标准使用液：根据需要，用水溶液配制成浓度为 10.0 ng/mL~500.0 ng/mL 的混合标准工作液，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(ESI)。
- 6.2 分析天平：感量 0.1mg 和 0.01g。
- 6.3 涡旋混合器。
- 6.4 离心机：最大转速 10000r/min。
- 6.5 水相微孔滤膜，孔径 0.22μm，或相当者。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取代表性样品摇匀，密闭常温或冷藏保存。

7.2 试样的提取

称取试样 5.0g（精确到 0.01g），加入 15mL 水，涡旋振荡 10min，取上清液 2mL，加入至盛有 100mgPSA（5.1.4）粉末的净化管中，涡旋 5min，8000r/min 离心 3min，上清液经 0.22 μ m 微孔滤膜（6.5）过滤，上机待测。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C18，2.1 mm×100 mm，粒径 1.8 μ m 或性能相当者。
- b) 柱温：40℃。
- c) 流动相：A：0.1%甲酸水溶液，B：乙腈；梯度洗脱见表 1。
- d) 流速：0.30mL/min。
- e) 进样量：10 μ L。

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	0.30	85	15
1.00	0.30	85	15
5.00	0.30	45	55
6.00	0.30	15	85
6.01	0.30	85	15
8.00	0.30	85	15

7.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）。

- b) 扫描方式：负离子扫描。
- c) 检测方式：多反应监测（MRM）。
- d) 离子源温度：350℃。
- e) 毛细管电压：2.5kV。
- f) 脱溶剂气流量：800L/h。
- g) 脱溶剂气温度：500℃。
- h) 碰撞器流速：0.18mL/min。
- i) 锥孔气流速：150L/h。
- j) 扫描范围：50~500。
- k) 定性离子对、定量离子对、碰撞能量等参数参见附录 A。

7.4 定量测定

根据样液中被测物含量情况，选定浓度相近的混合标准工作溶液，混合标准工作溶液和待测样液中被测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。基质混合标准工作溶液与样液等体积进样测定。标准溶液及样液均按 7.3.1 和 7.3.2 规定的条件进行测定，如果样液中与标准溶液相同的保留时间有峰出现，则对其进行定量分析，没食子酸、香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸的参考保留时间见表 2。采用标准曲线外标法定量。

7.5 定性测定

经定量分析被测物质量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物质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 3 定性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%

7.6 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

试样中没食子酸、香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸含量按式（1）进行计算：

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

(1)

式中：

- X ——样本中各种化合物含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；
- c ——测定溶液浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- V ——样本溶液提取溶液体积，单位为毫升（ mL ）；
- m ——试样质量，单位为克（ g ）。

注：计算结果应扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，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

本方法取样量为 5g，定容体积为 15mL 时，没食子酸、香草酸、丁香酸、对羟基苯甲酸、原儿茶酸的检出限均为 20 μ g/kg，定量限均为 50 μ g/kg。

附录 A
(资料性附录)

表 A 5 种羟基苯甲酸物质中英文通用名称、CAS 号和化学分子式

标准品名称	英文名	CAS 号	化学式
没食子酸	Gallic acid	149-91-7	C ₇ H ₆ O ₅
香草酸	Vanillic acid	121-34-6	C ₈ H ₈ O ₄
丁香酸	Syringate	530-57-4	C ₉ H ₁₀ O ₅
对羟基苯甲酸	P-hydroxybenzoic	99-96-7	C ₇ H ₈ O ₂
原儿茶酸	Protocatechuic acid	99-50-3	C ₇ H ₆ O ₄

附录 B
(资料性附录)

表 B 5 种羟基苯甲酸物质的质谱参数

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)
没食子酸	170.2	126.1	28	14
香草酸	198.3	154.0	48	20
		183.0	48	14
丁香酸	168.2	124.0	36	19
		153.1	36	14
对羟基苯甲酸	137.1	93.0	36	12
原儿茶酸	154.1	110.3	6	14

附录 C
(资料性附录)

5 种羟基苯甲酸物质的多反应监测 (MRM) 总离子流图

