

T B

团体标准

T/ NAIA×××-××××

葡萄酒中白藜芦醇的测定 液相色谱-串联质谱法

×××××-×××××发布

×××××-×××××实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前 言

本文件按照 GB/T1.1-2020 《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））、宁夏回族自治区标准化研究院、宁夏化学分析测试协会、宁夏农产品质量标准与检测技术研究所。

本文件主要起草人：马桂娟、马雪梅、李瑞雪、范英、汤丽华、王紫昕、吴明、吕毅、王琛、王鹏、张小飞、葛谦、袁媛、陈盼盼。

本文件为首次发布。

葡萄酒中白藜芦醇的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了葡萄酒中白藜芦醇的液相色谱-串联质谱法检测方法。
本文件适用于葡萄酒中白藜芦醇含量的测定和确证。

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

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经乙腈提取后，用无水硫酸镁、乙二胺-N-丙基硅烷（PSA）净化，取适量氮吹至干，定容后经 C18 色谱柱分离，液相色谱串联质谱仪测定，外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，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 无水硫酸镁：优级纯。
- 5.1.5 氯化钠：优级纯。
- 5.1.6 乙二胺-N-丙基硅烷(PSA):40~60 μ m。

5.2 溶液配制

0.1%甲酸水溶液：1mL 甲酸用水定容到 1000mL。

5.3 标准品

白藜芦醇(Resveratrolin, CAS 号：501-36-0, C₁₄H₁₂O₃): 纯度 \geq 98%。

5.4 标准溶液制备

- 5.4.1 标准储备液(1mg/mL)：准确称取适量白藜芦醇标准物质于棕色容量瓶中用甲醇配制成 1mg/mL 标准储备液，-18 $^{\circ}$ C 保存，有效期三个月。
- 5.4.2 标准工作液：根据需要，用初始流动相配制适当浓度的标准工作液，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 氮吹仪：可温控。

6.6 往复式摇床。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取原始样品 1kg 在瓷混样桶内充分混匀，将混匀样品置于洁净容器内密封，作为试样。

7.2 试样的提取

称取试样 5mL（精确到 0.1mL）于 50 mL 聚四氟乙烯离心管中，加入 3g 无水硫酸镁、1.0g 氯化钠，再加入 10mL 乙腈，涡旋混匀 1 min，振荡提取 10 min，10℃下 8000 r/min 离心 5 min，吸取 5mL 上清液加入内含 300mg 无水硫酸镁、300mg 乙二胺-N-丙基硅烷（PSA）的 15mL 塑料离心管中净化，涡旋混匀 1 min，8000 r/min 离心 5 min，取 1mL 净化液，用小流速氮气吹至近干，加入 1mL 初始流动相，涡旋混匀，过 0.22μm 微孔滤膜，用于测定。

7.3 标准曲线

将标准曲线工作液按浓度由低到高的顺序各取 10μL 分别注入液质联用仪，以标准曲线工作液的质量浓度为横坐标，以定量离子峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：ZORBAX Eclipse Plus C18，100mm×2.1 mm，粒径 1.8μm 或性能相当者。
- 柱温：35℃。
- 流动相：A：0.1%甲酸水，B：0.1%甲酸乙腈；梯度洗脱见表 1。
- 流速：0.30mL/min。
- 进样量：10μL。

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	98	2
2.00	0.30	98	2
6.00	0.30	20	80
9.00	0.30	20	80
9.01	0.30	98	2
12.00	0.30	98	2

7.4.2 质谱参考条件

- 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- 扫描方式：正离子扫描。
- 检测方式：多反应监测（MRM）。
- 离子源温度：350℃。
- 气体流速：6L/min。
- 雾化器压力：45psi。
- 鞘气温度：350℃。
- 鞘气流速：12L/min。
- 毛细管电压：3500V。
- 喷嘴电压：500V。
- 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞能量参考值见表 2。

表 2 白藜芦醇的定性离子对、定量离子对、碎裂电压和碰撞能量参考值

被测物名称	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)
白藜芦醇	229>135	229>107	110	21
	229>107		110	32
	229>91		110	32

7.4.3 定量测定

根据试样溶液中被测物含量情况，选定浓度相近的标准工作溶液，标准工作溶液和待测样液中白藜芦醇的响应值均应在仪器检测的线性范围内。标准溶液及试样溶液均按 7.4.1 和 7.4.2 规定的条件进行测定，白藜芦醇标准品的多反应监测（MRM）色谱图参见附录 A，采用初始流动相溶液配标，外标法定量。

7.4.4 定性测定

如果试样溶液中检出的色谱峰与标准溶液的保留时间相一致，并且在扣除背景后的样品谱图中，目标化合物的定量离子和定性离子均出现。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 3），则可判定样品中存在对应的被测物。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对丰度(基峰)	>50%	20%~50%(含)	10%~20%(含)	<10%
允许的相对偏差	±10%	±15%	±20%	±50%

7.5 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 结果计算和表述

试样中白藜芦醇含量按式（1）进行计算：

$$X = \frac{(C - C_0) \times V}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X—试样中白藜芦醇含量，单位为克每升（g/L）；

C-测定溶液浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

C₀-空白溶液浓度，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，单位为毫升（mL）。

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 定量限

本方法的白藜芦醇的定量限为 0.002mg/L。

附录 A
(资料性附录)

白藜芦醇标准品的多反应监测 (MRM) 色谱图

白藜芦醇的多反应监测 (MRM) 总离子流图见图 A.1。

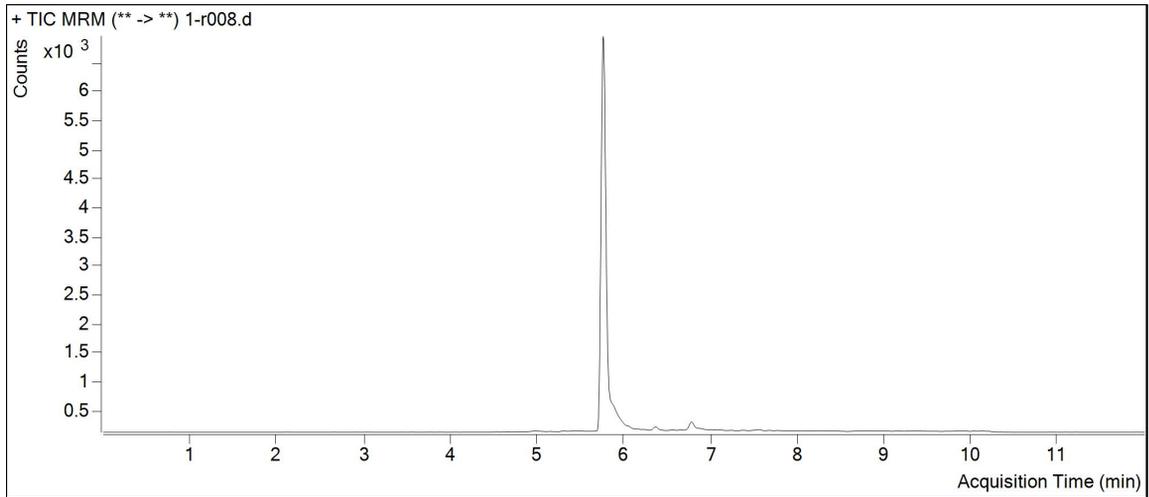


图 A.1 白藜芦醇的多反应监测 (MRM) 总离子流图
