

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5658.2—2023

蒸馏酒质量鉴别方法
第2部分：橡木浸出物的测定
超高效液相色谱法

Quality identification methods for spirits—
Part 2: Determination of the principal compounds extracted from oak during
ageing in spirits—UHPLC method

2023-11-01 发布

2024-05-01 实施

中华人民共和国海关总署 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。

本文件为 SN/T 5658《蒸馏酒质量鉴别方法》的第 2 部分。SN/T 5658 已经发布了以下部分：

——第 1 部分：18 种挥发性成分含量的测定 气相色谱法；

——第 2 部分：橡木浸出物的测定 超高效液相色谱法；

——第 3 部分：多酚总量的测定 分光光度法。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本文件起草单位：中国海关科学技术研究中心、中国肉类食品综合研究中心、杭州海关技术中心、北京中认检测技术服务有限公司、韶关学院（广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室）。

本文件主要起草人：韩深、王珮玥、古瑾、刘莹、梁娜娜、谢文、刘扬、钟瑞敏、张霞。

以正式出版文本为准

引 言

随着我国经济快速增长和人民生活水平的不断提高,蒸馏酒质量和真实性成为消费者更加关注的问题。中国逐步成为全球最大的消费市场,以追求经济利益为导向的掺假掺伪等食品真实性问题愈发突出,严重侵害了消费者的权益,影响行业的健康发展。本系列标准基于特征成分分析,应用现代仪器分析技术对蒸馏酒类产品进行准确定性定量分析检测,为海关进出口蒸馏酒质量和真实性保障提供了技术支撑。

SN/T 5658《蒸馏酒质量鉴别方法》拟由以下 3 个部分组成。

- 第 1 部分:18 种挥发性成分含量的测定 气相色谱法;
- 第 2 部分:橡木浸出物的测定 超高效液相色谱法;
- 第 3 部分:多酚总量的测定 分光光度法。

以正式出版文本为准

蒸馏酒质量鉴别方法

第2部分：橡木浸出物的测定

超高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了蒸馏酒中12种橡木浸出物的超高效液相色谱测定方法。

本文件适用于经过橡木浸出的蒸馏酒中没食子酸、5-羟甲基糠醛、糠醛、5-甲基糠醛、香草酸、丁香酸、香草醛、丁香醛、茛菪亭、松柏醛、芥子醛和鞣花酸的测定。

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于本文件；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 方法提要

试样经微孔滤膜过滤后，采用超高效液相色谱仪检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除非另有说明，所用试剂均为色谱纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

- 5.1 甲醇。
- 5.2 乙醇。
- 5.3 乙腈。
- 5.4 磷酸。
- 5.5 0.3%磷酸水溶液：量取3 mL磷酸(5.4)，用水定容至1 L。
- 5.6 40%乙醇水溶液：量取40 mL乙醇(5.2)，用水定容至100 mL。
- 5.7 5-羟甲基糠醛标准物质： $C_6H_6O_3$ ，CAS号67-47-0，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.8 糠醛标准物质： $C_5H_4O_2$ ，CAS号98-01-1，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.9 5-甲基糠醛标准物质： $C_6H_6O_2$ ，CAS号620-02-0，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.10 香草醛标准物质： $C_8H_8O_3$ ，CAS号121-33-5，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.11 丁香醛标准物质： $C_9H_{10}O_4$ ，CAS号134-96-3，纯度 $\geq 98\%$ 。

- 5.12 松柏醛标准物质： $C_{10}H_{10}O_3$ ，CAS号458-36-6，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.13 芥子醛标准物质： $C_{11}H_{12}O_4$ ，CAS号4206-58-0，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.14 没食子酸标准物质： $C_7H_6O_5$ ，CAS号149-91-7，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.15 鞣花酸标准物质： $C_{14}H_6O_8$ ，CAS号476-66-4，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.16 香草酸标准物质： $C_8H_8O_4$ ，CAS号121-34-6，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.17 丁香酸标准物质： $C_9H_{10}O_5$ ，CAS号530-57-4，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.18 茛菪亭标准物质： $C_{10}H_8O_4$ ，CAS号92-61-5，纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.19 标准储备液：分别称取5-羟甲基糠醛、糠醛、5-甲基糠醛、香草醛、丁香醛、松柏醛、芥子醛、没食子酸、香草酸和丁香酸标准物质各50 mg(精确至0.1 mg)，用乙醇(5.2)溶解并定容至10 mL，配制成浓度为5 000 mg/L的标准储备溶液；称取茛菪亭标准物质5 mg(精确至0.1 mg)，用乙醇(5.2)溶解并定容至10 mL，配制成浓度为500 mg/L的标准储备溶液；称取鞣花酸5 mg(精确至0.1 mg)，用甲醇(5.1)溶解并定容至10 mL，配置成浓度为500 mg/L的标准储备液。鞣花酸和没食子酸标准储备液于 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 以下保存，有效期为3个月。5-羟甲基糠醛、糠醛、5-甲基糠醛、香草醛、丁香醛、松柏醛、芥子醛、香草酸、丁香酸和茛菪亭标准储备液于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 以下保存，有效期为6个月。
- 5.20 混合标准溶液：分别吸取5-羟甲基糠醛、糠醛、5-甲基糠醛、香草醛、丁香醛、松柏醛、芥子醛、没食子酸、香草酸、丁香酸和茛菪亭11种标准储备液(5.19)各0.2 mL，吸取鞣花酸标准储备液(5.19)2 mL混合，用40%乙醇水溶液(5.6)定容于10 mL容量瓶。除茛菪亭浓度为10 mg/L以外，混合标准溶液中其余物质浓度100 mg/L，于 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 保存，有效期为3个月。
- 5.21 混合标准工作溶液：用40%乙醇水溶液(5.6)将混合标准溶液(5.19)稀释成系列浓度的混合标准工作溶液，其中茛菪亭的浓度为0.01 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、5 mg/L，其余11种物质的浓度为0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、50 mg/L，使用前配制。
- 5.22 针式微孔滤膜：0.22 μm ，有机系。
- 注：尼龙滤膜对鞣花酸有吸附。

6 仪器和设备

- 6.1 超高效液相色谱仪：配有多通道紫外检测器或二极管阵列检测器；茛菪亭可使用荧光检测器。
- 6.2 天平：感量为0.1 mg。

7 测定步骤

7.1 试样制备

将试样混匀静置1 min后，取1 mL过微孔滤膜(5.22)于进样小瓶中，待分析。如果试样中待测化合物浓度过高，以40%乙醇溶液(5.6)稀释后待分析。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱条件

- 7.2.1.1 色谱柱：五氟苯基色谱柱(150 mm \times 4.6 mm, 2.6 μm)，或相当者。
- 7.2.1.2 流动相(A)：乙腈；流动相(B)：0.3%磷酸水溶液。
- 7.2.1.3 流速：0.4 mL/min。
- 7.2.1.4 进样量：3 μL 。
- 7.2.1.5 柱温：40 $^\circ\text{C}$ 。

7.2.1.6 检测波长:260 nm、280 nm、340 nm。

7.2.1.7 梯度洗脱:见表1。

注:如有荧光检测器,茛菪亭选用荧光检测器进行检测,有更高的灵敏度,激发波长354 nm,发射波长446 nm。

表1 液相梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	10	90
20	20	80
25	30	70
30	30	70

7.2.2 色谱分析

根据设定的色谱条件(7.2.1),将橡木浸出物系列混合标准工作溶液(5.21)分别注入超高效液相色谱仪中,以峰面积为纵坐标,标准溶液浓度为横坐标绘制标准曲线,计算线性回归方程。样品(7.1)与标准溶液等体积进样测定,测得被测组分峰面积,采用外标法通过上述标准曲线计算其浓度。样品中被测组分应在标准曲线范围之内,如果含量超出标准曲线范围,应对样品用40%乙醇水溶液进行适当稀释后测定。在相同试验条件下,样品与标准品工作溶液中被测组分的色谱峰保留时间的相对偏差在±2.5%以内。橡木浸出物的超高效液相色谱图见附录A中图A.1,参考保留时间见附录A中表A.1。

7.2.3 空白试验

用水代替试样,按7.1步骤做空白试验。确认不含有干扰被测组分的物质。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理软件或按公式(1)计算试样中某待测物的含量,计算结果需扣除空白值,并保留三位有效数字。

$$X_i = c_i \times f \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X_i —— 试样中被测组分含量,单位为毫克每升(mg/L);

c_i —— 从标准工作曲线得到的试样中被测组分溶液浓度,单位为毫克每升(mg/L);

f —— 样品的稀释倍数。

9 方法的定量限、精密度和回收率

9.1 定量限

蒸馏酒中没食子酸、5-羟甲基糠醛、糠醛、5-甲基糠醛、香草酸、丁香酸、香草醛、松柏醛、芥子醛和鞣花酸的定量限为0.1 mg/L,丁香醛的定量限为0.2 mg/L。紫外检测器测定茛菪亭的定量限为0.04 mg/L,荧光检测器测定茛菪亭的定量限为0.01 mg/L。

9.2 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值不得超过算术平均值的10%。

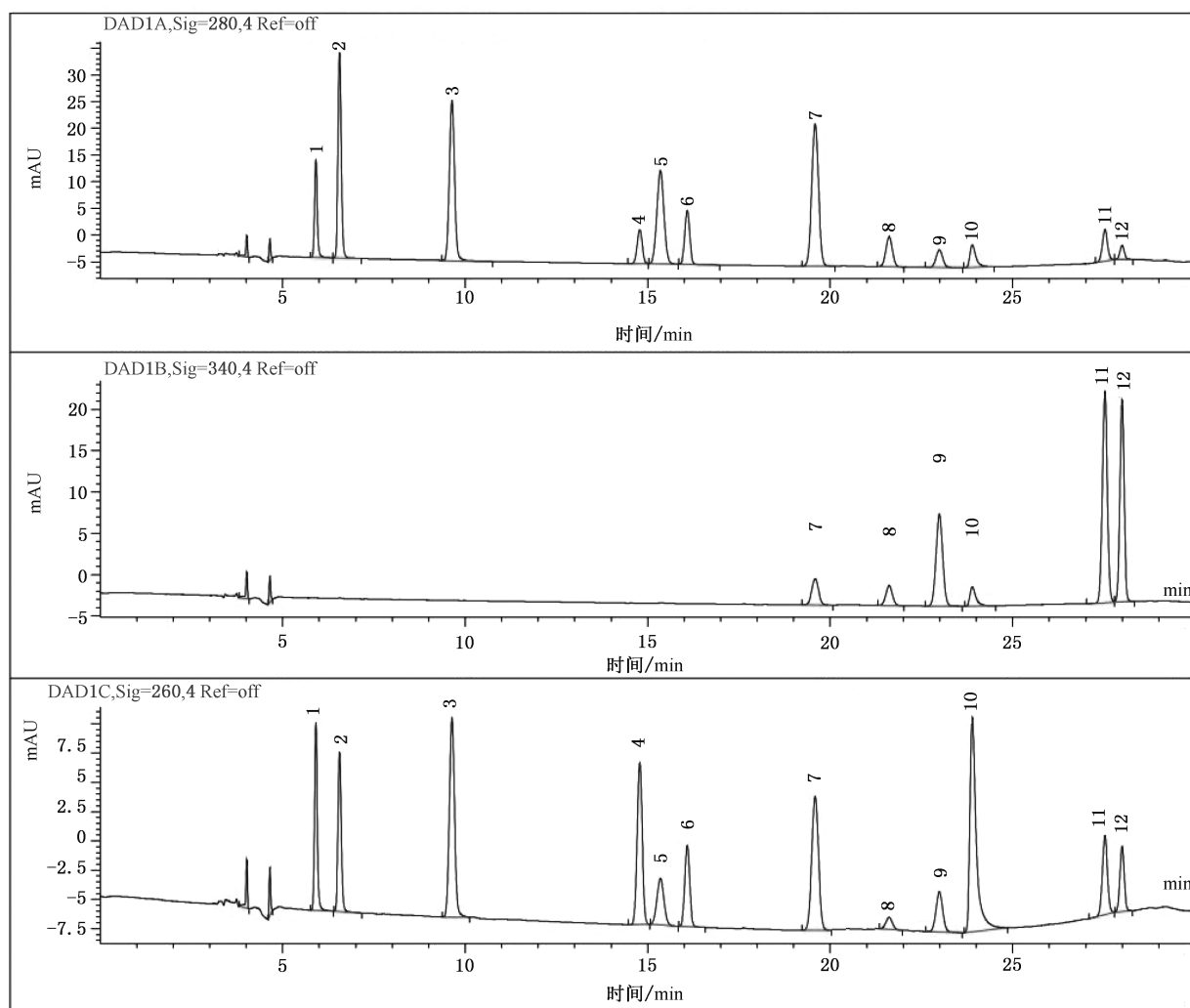
9.3 回收率

白兰地、威士忌、朗姆酒中 12 种橡木浸出物的添加水平及回收率数据见附录 B,其中表 B.1~表 B.3 为二极管阵列测定结果,表 B.4 为茈萆亭荧光检测器测定结果。

以正式出版文本为准

附 录 A
(资料性)
橡木浸出物标准溶液色谱图

橡木浸出物标准溶液色谱图见图 A.1。



标引序号说明：

1—没食子酸；
2—5-羟甲基糠醛；
3—糠醛；
4—香草酸；
5—5-甲基糠醛；
6—丁香酸；

7—香草醛；
8—丁香醛；
9—芪蓉亭；
10—鞣花酸；
11—松柏醛；
12—芥子醛。

图 A.1 橡木浸出物标准溶液色谱图(5 mg/L)

橡木浸出物参考保留时间见表 A.1。

表 A.1 橡木浸出物参考保留时间

序号	化合物	保留时间/min
1	没食子酸	5.5
2	5-羟甲基糠醛	6.3
3	糠醛	9.1
4	香草酸	13.4
5	5-甲基糠醛	14.3
6	丁香酸	14.8
7	香草醛	17.8
8	丁香醛	20.0
9	萜荭亭	21.1
10	鞣花酸	21.9
11	松柏醛	26.0
12	芥子醛	26.9

附录 B

(资料性)

白兰地、威士忌、朗姆酒中 12 种橡木浸出物添加回收率及相对标准偏差(RSD)($n=6$)

白兰地、威士忌、朗姆酒中 12 种橡木浸出物添加回收率及相对标准偏差见表 B.1~表 B.4。

表 B.1 白兰地中 12 种橡木浸出物添加回收率及 RSD($n=6$)

化合物	本底值/(mg/L)	添加水平/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/%
没食子酸	6.10	3.0	95.1	2.74
		6.0	96.8	1.74
		15.0	92.0	1.31
5-羟甲基糠醛	19.1	5.0	97.6	1.77
		10.0	97.9	1.67
		25.0	98.2	0.83
糠醛	8.50	4.0	100.5	2.73
		8.0	100.7	2.76
		20.0	99.5	1.20
香草酸	0.980	0.5	98.2	3.65
		1.0	99.0	2.02
		2.5	97.0	1.10
5-甲基糠醛	0.311	0.1	99.0	3.11
		0.2	97.5	2.72
		0.5	96.9	2.01
丁香酸	1.70	0.5	98.6	4.17
		1.0	97.2	2.44
		2.5	97.2	1.35
香草醛	1.84	1.0	96.1	2.61
		2.0	101.9	2.59
		5.0	95.6	1.43
丁香醛	4.23	2.0	99.2	2.85
		4.0	99.7	2.36
		10.0	96.8	1.82
芪蓉亭	0.0686	0.04	102.1	2.46
		0.08	95.8	1.66
		0.2	97.4	0.97
鞣花酸	10.2	5	96.7	2.79
		10	97.8	1.87
		25	96.2	0.95

表 B.1 白兰地中 12 种橡木浸出物添加回收率及 RSD($n=6$)

化合物	本底值/(mg/L)	添加水平/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/%
松柏醛	0.679	0.3	98.6	2.45
		0.6	99.1	2.05
		1.5	97.2	1.43
芥子醛	0.270	0.1	98.0	3.33
		0.2	100.8	1.95
		0.5	98.2	1.68

表 B.2 威士忌中 12 种橡木浸出物添加回收率及 RSD($n=6$)

化合物	本底值/(mg/L)	添加水平/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/%
没食子酸	0.930	0.5	98.2	3.68
		1.0	95.7	1.57
		2.5	100.3	0.71
5-羟甲基糠醛	3.38	1	94.6	2.45
		2	100.5	2.37
		5	94.2	1.43
糠醛	1.94	1	99.5	2.78
		2	100.4	2.92
		5	99.5	1.04
香草酸	0.250	0.1	98.8	3.10
		0.2	97.2	2.92
		0.5	99.9	1.08
5-甲基糠醛	0.110	0.1	99.8	2.86
		0.2	98.8	2.97
		0.5	100.6	3.84
丁香酸	1.59	0.5	99.9	4.35
		1.0	97.9	3.17
		2.5	96.6	1.98
香草醛	1.55	0.5	96.4	2.00
		1.0	97.2	2.01
		2.5	100.2	1.34
丁香醛	2.01	1.0	99.5	2.06
		2.0	99.2	1.65
		5.0	100.8	0.53

表 B.2 威士忌中 12 种橡木浸出物添加回收率及 RSD($n=6$) (续)

化合物	本底值/(mg/L)	添加水平/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/%
萹荇亭	0.0919	0.04	100.4	2.41
		0.08	102.0	0.79
		0.2	100.0	1.13
鞣花酸	2.36	1.0	98.4	1.64
		2.0	95.1	2.41
		5.0	100.2	1.52
松柏醛	0.110	0.1	96.8	1.63
		0.2	97.8	1.37
		0.5	97.6	0.69
芥子醛	0.120	0.1	97.7	1.43
		0.2	99.9	1.60
		0.5	99.6	0.73

表 B.3 朗姆酒中 12 种橡木浸出物添加回收率及 RSD($n=6$)

化合物	本底值/(mg/L)	添加水平/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/%
没食子酸	4.31	2	99.5	1.41
		4	100.7	2.09
		10	97.6	2.14
5-羟甲基糠醛	22.4	10	97.1	1.69
		20	97.5	1.81
		50	97.3	1.44
糠醛	1.24	0.5	97.7	1.55
		1	96.0	2.00
		2.5	96.2	2.44
香草酸	0.442	0.2	97.8	1.69
		0.4	95.4	1.52
		1	95.9	1.92
5-甲基糠醛	0.103	0.1	99.9	2.30
		0.2	97.7	2.65
		0.5	97.0	1.87
丁香酸	0.911	0.5	98.8	1.98
		1	100.5	1.47
		2.5	98.4	1.51

表 B.3 朗姆酒中 12 种橡木浸出物添加回收率及 RSD($n=6$) (续)

化合物	本底值/(mg/L)	添加水平/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/%
香草醛	2.56	1	98.6	1.59
		2	98.2	1.43
		5	98.2	1.41
丁香醛	2.22	1	97.5	2.04
		2	99.0	2.51
		5	99.8	1.62
萸荭亭	<0.04	0.04	99.3	3.97
		0.08	98.3	3.88
		0.2	96.9	2.59
鞣花酸	8.49	4	97.4	2.00
		8	100.1	1.66
		20	97.0	1.31
松柏醛	0.363	0.2	96.7	2.21
		0.4	96.5	1.78
		1	99.3	2.04
芥子醛	0.844	0.4	97.6	1.72
		0.8	99.4	1.58
		2	97.4	0.78

表 B.4 荧光检测器测定白兰地、威士忌和朗姆酒中萸荭亭添加回收率及 RSD($n=6$)

	白兰地			威士忌			朗姆		
本底值/ (mg/L)	0.067 8			0.091 2			0.032 6		
添加水平/ (mg/L)	0.03	0.06	0.15	0.04	0.08	0.2	0.01	0.02	0.05
平均回收率/ %	100.2	98.9	99.1	98.8	99.1	101.8	100.1	97.5	98.6
RSD/ %	1.83	2.17	1.85	1.15	2.63	1.10	1.10	1.51	2.25