

中华人民共和国海关行业标准

HS/T 24—2009

酒花浸膏中 α -酸和 β -酸的测定方法 液相色谱-串联质谱法

Qualitative and quantitative method for the determination of α -acid and β -acid in hop concretes -LC-MS/MS method

2009-02-29 发布

2009-04-01 实施

中华人民共和国海关总署 发布

前　　言

本标准的附录A为资料性附录

本标准由中华人民共和国海关总署关税征管司提出。

本标准由中华人民共和国海关总署政策法规司归口。

本标准起草单位：中华人民共和国大连海关。

本标准主要起草人：尹兵、王恒毅、李大志、孙利。

酒花浸膏中 α -酸和 β -酸的测定方法 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了酒花浸膏中 α -酸和 β -酸含量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于进出口酒花浸膏中 α -酸和 β -酸的定性和定量分析。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准：

3.1

α -酸 α -acid

酒花浸膏中的葎草酮类成分，包括合葎草酮（cohumulone）和加葎草酮（adhumulone）。

3.2

β -酸 β - acid

酒花浸膏中的蛇麻酮类成分，包括合蛇麻酮（colupulon）和加蛇麻酮（adlupulone）。

4 总则

本标准应用了下列方法：

按照本标准规定进行样品制备，通过高效液相色谱对酒花浸膏中的 α -酸和 β -酸进行分离，使用二级质谱对 α -酸和 β -酸进行检测，通过建立标准曲线，对酒花浸膏中 α -酸和 β -酸进行定性定量分析。

5 试剂和材料

本标准使用下列试剂和材料：

- 甲醇：色谱纯；
- 乙腈：色谱纯；
- 甲酸：色谱纯；
- 8%甲酸：量取 8mL 甲酸，用水稀释，定容至 100mL，水为 GB/T 6682 规定的一级水；
- 酒花浸膏标准品。

安全提示：本标准使用的甲醇和乙腈为有害和易挥发试剂，使用者应当在无明火、通风良好的环境中进行操作。

6 仪器和设备

本标准使用下列仪器和设备：

- 天平：感量 0.1mg；
- 超声波清洗仪；

- c) 恒温水浴;
- d) 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾的离子源。

7 试样制备

7.1 标准样品溶液的制备

将酒花浸膏标准样品置于30℃恒温水浴中，搅拌均匀。准确称取0.5g（精确至0.001g）标准酒花浸膏于50mL烧杯中，加入30mL甲醇于超声波中震荡5分钟溶解，将溶解液转移到100mL容量瓶，用甲醇定容，混匀，用0.45μm滤膜过滤。

7.2 试样制备

准确称取约0.5g样品（精确至0.001g）置于烧杯中，加入甲醇溶解，将溶液定量转移入100mL容量瓶，加入甲醇定容至100mL，移取10mL溶液置于50mL容量瓶中，用甲醇定容至50mL。混匀，用0.45μm滤膜过滤，作为待测溶液。

8 测定步骤

8.1 液相色谱条件

本标准使用下列液相色谱条件：

- a) 色谱柱：ZORBAX Extend-C-18（5μm，150mm×4.6mm）或相当；
- b) 柱温：25℃；
- c) 流动相：乙腈+8%甲酸溶液（85+15）%；
- d) 流速：0.8mL/min；
- e) 进样量：10μL；
- f) 检测器：DAD，检测波长330nm。

8.2 质谱条件

本标准使用下列质谱条件：

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- b) 鞘气流速：21L/min；
- c) 辅助气流速：4.5L/min；
- d) 喷雾电压：5kV；
- e) 毛细管温度：350℃；
- f) 毛细管电压：15V；
- g) 检测模式：负离子模式，二级质谱检测；
- h) 质量扫描范围： m/z 150–500amu；

定性定量离子对见表1。

表1 α-酸和β-酸的定性定量离子对

中文名称	英文名称	定性离子对(amu)	定量离子对(amu)
合葎草酮	cohumulone	347.3/278.4 347.3/235.4	347.3/278.4
加葎草酮	adhumulone	361.3/292.5 361.3/249.5	361.3/292.5
合蛇麻酮	colupulone	399.3/330.5 398.7/287.5	399.3/330.5
加蛇麻酮	adlupulone	413.4/344.5 413.4/301.6	413.4/344.5

8.3 液相质谱-串联质谱测定

8.3.1 定性分析

按照8.1和8.2的分析条件分析样品，在相同实验条件下，如果检出的色谱峰的保留时间与标准液中的组分一致，质谱图检测到合葎草酮、加葎草酮、合蛇麻酮和加蛇麻酮的准分子离子峰 $[M-H]^-$ ，并且准分子离子峰的二级质谱碎片峰与目标成分的裂解规律相符，可判定样品中存在对应的待测物。

8.3.2 定量测定

用不同浓度的酒花浸膏标准溶液分别进样，以目标成分的单离子扫描质谱图峰面积为纵坐标，工作溶液浓度为横坐标，绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量。样品溶液待测组分的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述的色谱条件和质谱条件下，四种 α -酸和 β -酸的保留时间见表2，其标准总离子流图见附录A图A. 1。

表2 α -酸和 β -酸的参考保留时间

中文名称	保留时间/min
合葎草酮	4.76
加葎草酮	5.52
合蛇麻酮	8.38
加蛇麻酮	10.31

8.4 平行试验

按以上步骤，对同一试样进行平行试验测定。

9 结果计算

结果按式(1)计算:

$$X = c \times \frac{V}{m} \times \frac{100}{1000} \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

式中： X ——试样中被测组分含量，单位为百分之百(%)；

c——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

V ——样品溶液最终定容体积，单位为毫升(mL)；

m —样品溶液所代表最终试样的质量，单位为克(g)。

计算结果保留小数点后一位。

10 精密度

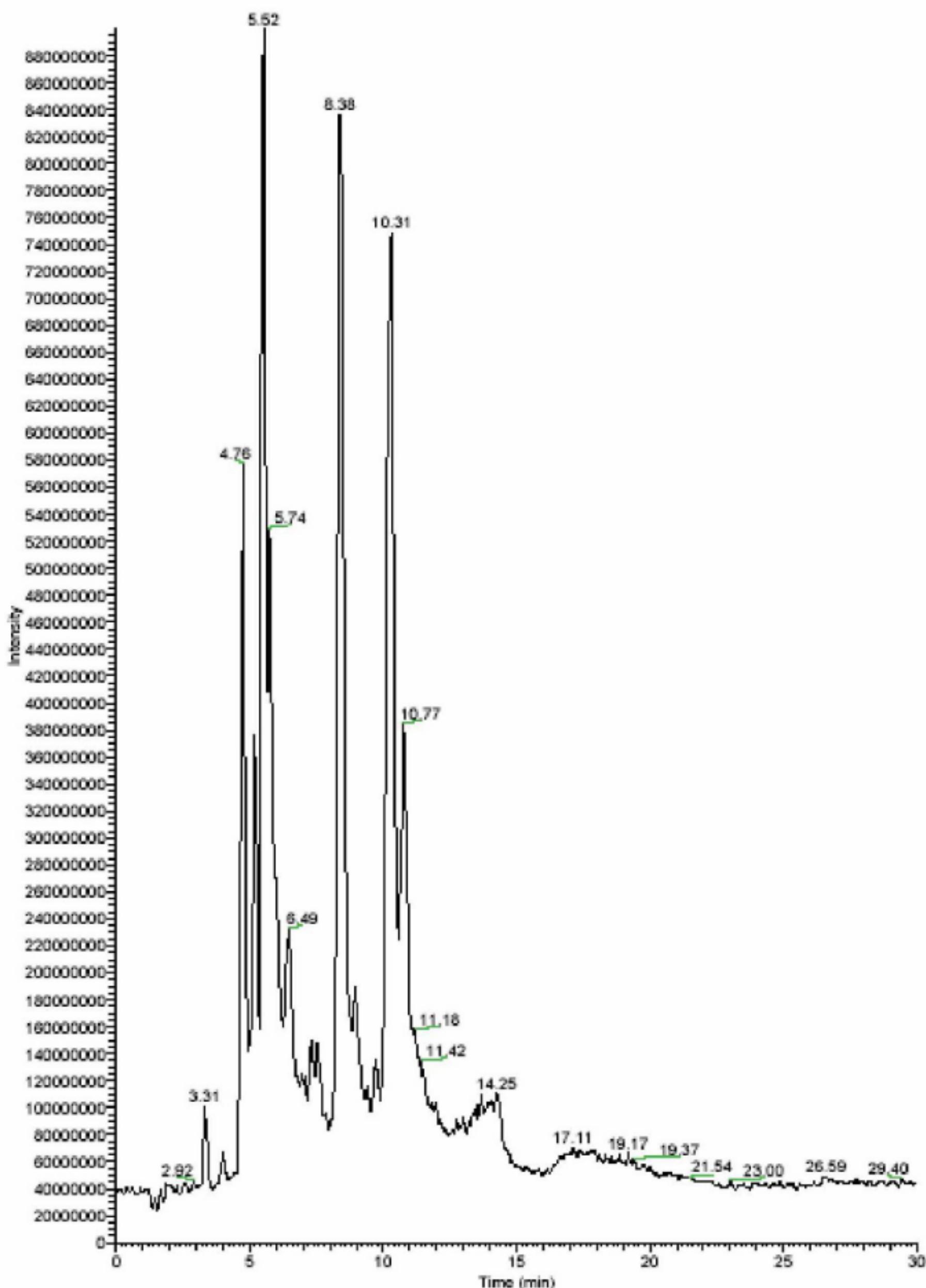
实验室平行测定或连续两次测定结果的相对标准偏差不大于5%。

11 实验报告

实验报告应至少包括下列内容：

- a) 实验依据的标准和参考资料;
 - b) 实验的日期和地点;
 - c) 实验结果;
 - d) 偏离标准的差异;
 - e) 在实验中观察到的异常现象。

附录A
(资料性附录)
标准物质总离子流图



图A.1 四种 α -酸和 β -酸标准物质的总离子流图
合葎草酮4.76min, 加葎草酮5.52min, 合蛇麻酮8.38min, 加蛇麻酮10.31min。