

T/GARIRPA

团 体 标 准

T/GARIRPA XXXX—XXXX

芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法

Analysis method for organic acids in mango fruits—high performance liquid chromatography

（征求意见稿）

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

广西农业农村产业振兴促进会 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》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西壮族自治区农业科学院农产品加工研究所提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西壮族自治区农业科学院农产品加工研究所、广西农业科学院农产品质量安全与检测技术研究所。

本文件主要起草人：饶川艳、何雪梅、孙健、叶冬青、李丽、何洁、覃国新。

芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了采用高效液相色谱法测定芒果果实中有机酸含量的技术原理、试剂耗材、仪器设备、样品处理、试验方法、结果分析等阶段操作指示。

本文件适用于采用高效液相色谱法对芒果果实中多种有机酸含量的测定。

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 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 技术原理

将芒果果实试样进行打浆离心处理后，取上清液测定其中有机酸含量。采用高效液相色谱（HPLC）与紫外检测相结合的方式，运用外标法定量分析各有机酸成分。

5 试剂耗材

5.1 一般要求

除特殊注明外，本文件所用试剂均为分析纯，水应符合GB 6682 中一级水的规定。

5.2 试剂

5.2.1 磷酸二氢钾（ KH_2PO_4 ）： $\rho=2.238\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.2.2 磷酸（ H_3PO_4 ）： $\rho=1.685\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 85.0\%$ 。

5.2.3 甲醇（ CH_3OH ）： $\rho=0.7866\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 99.9\%$ 。

5.2.4 浓硫酸（ H_2SO_4 ）： $\rho=1.84\text{ g/cm}^3$ ，含量 $\geq 98.0\%$ 。

5.3 标准品

5.3.1 琥珀酸（ $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$ ）： $\rho=1.572\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.2 酒石酸（ $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$ ）： $\rho=1.886\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.3 柠檬酸（ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ）： $\rho=1.542\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.4 苹果酸（ $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$ ）： $\rho=1.609\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.5 乳酸（ $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ ）： $\rho=1.209\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.6 乙酸（ CH_3COOH ）： $\rho=1.05\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.7 α -酮戊二酸（ $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_5$ ）： $\rho=1.05\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.8 草酸（ $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ）： $\rho=1.772\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.9 富马酸（ $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ ）： $\rho=1.63\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.10 奎宁酸（ $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$ ）： $\rho=1.64\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.3.11 没食子酸（ $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ）： $\rho=1.694\text{ g/cm}^3$ ，纯度 $\geq 98.0\%$ 。

5.4 试剂配制

准确称取磷酸二氢钾（5.2.1）1.3609 g于小烧杯中，加水溶解，转移至1000 mL容量瓶中，定容并混匀，配成0.01 mol/L的磷酸二氢钾溶液。随后用磷酸（5.2.2）调节pH=2.8；取15 mL的甲醇（5.2.3）与985 mL的0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液（pH=2.8）混合均匀。

5.5 标准溶液配制

5.5.1 20 g/L 有机酸单标标准储备液

分别准确称取0.20 g的琥珀酸（5.3.1）、酒石酸（5.3.2）、柠檬酸（5.3.3）、苹果酸（5.3.4）、乳酸（5.3.5）、乙酸（5.3.6）、奎宁酸（5.3.11）于10 mL的各自棕色容量瓶中，加水溶解并定容，混匀，于-20℃条件下保存，有效期为12个月。

5.5.2 10 g/L 有机酸单标标准储备液

准确称取0.10 g的草酸（5.3.8）于10 mL的棕色容量瓶中，加水溶解并定容，混匀，于-20℃条件下保存，有效期为12个月。

5.5.3 4 g/L 有机酸单标标准储备液

分别准确称取0.04 g的α-酮戊二酸（5.3.7）、富马酸（5.3.9）、没食子酸（5.2.11）于10 mL的各自棕色容量瓶中，加水溶解并定容，混匀，于-20℃保存，有效期为12个月。

5.5.4 有机酸混合标准储备液

分别准确移取1 mL不同的单标标准储备液（5.5.1）（5.5.2）（5.5.3）于25 mL容量瓶中，充分摇匀，于-20℃保存，有效期为12个月。此时混合标准储备液中琥珀酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、乙酸、奎宁酸的浓度为0.8 g/L；草酸的浓度为0.4 g/L；α-酮戊二酸、富马酸、没食子酸的浓度为0.16 g/L。

5.5.5 0.0100 g/L~0.8000 g/L 有机酸混合标准工作液

根据样品类别对有机酸混合标准储备液（5.5.3）进行梯度稀释，使混合标准工作液中琥珀酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、乙酸、奎宁酸的浓度处于0.0500 g/L~0.8000 g/L范围，草酸浓度处于0.0250 g/L~0.4000 g/L范围。α-酮戊二酸、富马酸、没食子酸的浓度处于0.0100 g/L~0.16 g/L，且需现配现用。

6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪：配备紫外可调波长检测器。

6.2 高速粉碎机。

6.3 电子天平：感量应为0.0001 g和0.01 g。

6.4 离心机：转速不低于4000 r/min。

6.5 水相型微孔滤膜：孔径0.22 μm。

7 试验方法

7.1 样品制备及保存

用清水冲洗芒果表面，去除污物和农药残留，去除果皮和果核，仅保留果肉部分。将果肉切碎后放入高速粉碎机打浆，搅拌均匀，分装到干净的瓶子里，密闭冷藏或冷冻保存。

7.2 试样处理

准确称取（7.1）的试样10.0 g（精确至0.0001 g），置于15 mL离心管中，放入离心机中转速4000 r/min条件下离心10 min，取上清液稀释至合适浓度，再经过0.22 μm微孔滤膜过滤，注入高效液相色谱仪分析。

7.3 参考色谱条件

色谱柱：Perfect T3色谱柱，4.6 mm×250 mm，5 μm，或同等性能的色谱柱。

流动相：用10%甲醇水溶液等度洗脱30 min，然后采用0.01 mol/L、pH=2.8的磷酸二氢钾中含3%甲醇体系为流动相平衡系统直至基线平稳。

柱温：32℃。

进样量：10 μL。

检测波长：210 nm。

流速：0.5 mL/min。

8 结果分析

8.1 计算方法

试样中有机酸的含量按公式（1）计算：

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

式中：

X ——试样中有机酸的含量，单位为克每升（g/L）；

C ——根据标准曲线计算得到的试样中有机酸的浓度，单位为克每升（g/L）；

V ——样品溶液定容体积（mL）；

m ——最终样液代表的试样质量，单位为克（g）；

1000——换算系数。

注：计算结果以重复性条件下获得的三次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留两位有效数字。

8.2 精密度

在重复性条件下获得的三次测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。