

ICS 67.100

CCS C 144

T/NAIA

团体标准

T/ NAIA XXX—2025

枸杞中 5 种有机酸的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of Five organic acids in Wolfberry by

HPLC-MS/MS

2025-03-17 发布

2025-03-31 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））、宁夏计量质量检验检测研究院、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：

枸杞中 5 种有机酸的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了枸杞中 5 种有机酸（水杨酸，丁香酸，阿魏酸，绿原酸和咖啡酸）测定的液相色谱-串联质谱检测方法。

本文件适用枸杞中枸杞中水杨酸，丁香酸，阿魏酸，绿原酸和咖啡酸 5 种有机酸的测定

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 原理

试样经有机水溶液涡旋震荡提取，取上清液，经分散固相萃取净化，反相色谱柱分离，以保留时间定性，供高效液相色谱-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 试剂

5.1.1 甲酸：色谱纯。

5.1.2 乙腈：色谱纯。

5.1.3 甲醇：分析纯。

5.1.4 十八烷基键合硅胶吸附剂（C₁₈）：粒径 50μm。

5.1.5 石墨化炭黑（GCB）：粒径 50μm。

5.1.6 0.1%甲酸水溶液：取甲酸（5.1.1）1.0mL，用水定容到 1000mL，混匀。

5.1.7 50%甲醇水溶液：取甲醇（5.1.3）50mL，用水定容至 100mL，混匀。

5.2 标准品

5 种有机酸标准品名称、化学分子式、CAS 号和纯度见附录 A。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备液 (1.0mg/mL)：分别准确称取水杨酸，丁香酸，阿魏酸，绿原酸和咖啡酸标准品10mg（准确至0.1mg），于10mL容量瓶中，分别用甲醇（5.1.3）溶解并定容至刻度，4℃保存。

5.3.2 混合标准中间液（100μg/mL）：分别准确吸取水杨酸，丁香酸，阿魏酸，绿原酸和咖啡酸标准储备液（5.3.1）各1.0mL于10mL容量瓶中，用50%甲醇水（5.1.7）定容。

5.3.3 混合标准使用液：分别准确吸取混合标准储备液（5.3.2）适量，用50%甲醇水配制成浓度为5.0 ng/mL~800.0 ng/mL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。

6.2 天平：感量 0.01mg 和 0.01g。

6.3 涡旋混合器。

6.4 高速离心机：最大转速 9000r/min。

6.5 有机微孔滤膜，孔径 0.22μm，或相当者。

7 分析步骤

7.1 试样的制备

枸杞干果样本取可食用部分，混合均匀，搅拌破碎，装入密闭洁净容器，冷冻保存。

7.2 试样的处理

称取 1g（精确至 0.01g）枸杞样品置于 50mL 具塞离心管中，加入 10mL 50%甲醇水（5.1.7），涡旋提取 10 min，6000r/min 离心 5min；取 2mL 提取液加入含有 100 mg C₁₈ 粉末（5.1.4）和 50 mg GCB（5.1.5）的离心管中，涡旋 5min，8000r/min 离心 5min，取上清液经 0.22μm 微孔滤膜（6.5）过滤后，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：C₁₈，2.1mm×150mm，粒径 3.5μm 或性能相当。

b) 柱温：40℃。

c) 流动相：A：0.1%的甲酸水溶液（5.1.7），B：乙腈（5.1.2），梯度洗脱条件见表 1。

d) 流速：0.3mL/min。

e) 进样量：5μL。

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	0.3	92	8
6.50	0.3	50	50
8.00	0.3	92	8
10.00	0.3	92	8

7.3.2 质谱参考条件

- a) 电离方式：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) 鞘气温度：325℃。
- e) 鞘气流速：10.0L/min。
- f) 雾化器压力：310.23kPa。
- g) 喷嘴电压：500V。
- h) 毛细管电压：3500V。
- i) 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞能量等参数参见附录 B。

7.4 定性确证

7.4.1 保留时间

被测物质色谱峰保留时间与标准物质色谱峰保留时间相比较，相对误差应在±2.5%以内。

7.4.2 离子丰度比

相同实验条件下进行样品测定时，如果检出色谱峰的保留时间与标准样品相一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的离子均出现。而且样品化合物的离子丰度比与质量浓度相当的标准溶液相比，相似度的允许偏差不超过表 2 规定的范围，则可判定样品中存在目标组分。

表 2 定性确证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%

7.5 定量测定

将标准溶液与试液依次注入液相色谱-串联质谱仪中，采用标准溶液校准曲线外标法定量，待测试液中目标物的响应值均应在仪器检测的定量线性范围内，超过线性范围时应进行适当倍数稀释后再进行分析。在上述液相色谱质谱条件下，5 种有机酸标准溶液的特征离子质量色谱图见附录 B。

7.6 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 结果与表达

试样中 5 种有机酸含量按式（1）进行计算：

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

式中：

X ——试样中化合物含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；

C ——由标准曲线计算出的试样溶液浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；

V ——试样的最终定容体积，单位为毫升（ mL ）；

m ——试样质量，单位为克（ g ）；

f ——稀释倍数。

注：测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

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 定量限

水杨酸，丁香酸，阿魏酸，绿原酸和咖啡酸的定量限均为 $20.0\mu\text{g/kg}$ 。

附录 A
(资料性)

表 A.1 5 种有机酸标准品名称、化学分子式和 CAS 号

序号	名称	化学分子式	CAS 号	纯度
1	水杨酸	C ₇ H ₆ O ₃	69-72-7	>99%
2	丁香酸	C ₉ H ₁₀ O ₅	530-57-4	>99%
3	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1135-24-6	>98%
4	绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	>98%
5	咖啡酸	C ₉ H ₈ O ₄	331-39-5	>99%

附录 B
(资料性)

表 B.1 水杨酸、丁香酸、阿魏酸、绿原酸和咖啡酸的质谱参数

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)
水杨酸	136.5	93*	40	20
		65	40	25
丁香酸	197	182*	60	14
		153	60	20
阿魏酸	193.22	149*	60	10
		134	60	15
绿原酸	353.2	191.2*	120	31
咖啡酸	179.15	135	60	10
		107	60	25

注：*为定量离子

附录 C
(资料性)

图 C.1 水杨酸，丁香酸，阿魏酸，绿原酸和咖啡酸多反应监测（MRM）色谱图

