研究论文

# 葡萄中有机酸的提取工艺参数优化及同时测定

加列西·马那甫[1]，李俊芳[1]，德娜·吐热汗[2]，景伟文[*1]

（1. 新疆农业大学 化学工程学院，新疆 乌鲁木齐 830052；2. 新疆农业大学 数理学院，新疆 乌鲁木齐 830052）

**摘要**：根据单因素试验结果与响应面分析法中的 Box-Behnken 试验设计原理选取试验因素与水平，对葡萄有机酸提取率有影响的料液比、乙醇体积分数和 pH 值 3 个因素进行优化；结果表明：葡萄有机酸提取的最佳工艺参数为料液质量体积比 1 g:16 mL，乙醇体积分数 76.37%，pH 值 11.87；在此条件下，葡萄有机酸质量分数为 216.907 μg/g。硫酸铜与柠檬酸、酒石酸和苹果酸反应生成的络合物吸收光谱重叠严重，用光度法难以进行单一组分的测定。采用偏最小二乘-光度法对柠檬酸、酒石酸和苹果酸模拟混合试样进行同时测定，并应用于葡萄有机酸的测定。对模拟混合试样，回收率 99.6%~99.8%；RPEs 为 0.64%~0.67%。

**关键词**：响应面分析法；提取；葡萄；有机酸；同时测定

**中图分类号**：R 284.2　**文献标志码**：A　**文章编号**：1673—1689(2014)07—0696—07

# Optimization of Extraction Parameters and the Simultaneous Determination of Organic Acids in Grapes

*Jialiexi·Manafu*[1]，*LI Junfang*[1]，*Dena·Turehan*[2]，*JING Weiwen*[*1]

（1. College of Chemical Engineering，Xinjiang Agricultural University，Urumqi 830052，China；2. College of Mathematics and Physics，Xinjiang Agricultural University，Urumqi 830052，China）

**Abstract**：According to the results of single factor experiments and response surface analysis of Box-Behnken experimental design principle，the factors that influence the extraction rate of the organic acids in grapes were optimized. The 3 factors were solid to liquid ratio，the volume fraction of ethanol and pH value. The results showed that the optimum extraction conditions for organic acids in grapes were as follows：the solid to liquid ratio was 1:16 (g/mL)，the volume fraction of ethanol was 76.37% and the pH value was 11.87. Under this condition，the extraction mass fraction of organic acids in grapes was 216.907 μg/g. The absorption spectra of complexes that generated by citric acid，tartaric acid and malic acid with copper sulfate were overlapping seriously. So it´s very difficult to separate each component with photometric method. In this paper，the partial least squares method was used for simultaneous determination of the simulation ofmixed citric acid，tartaric acid and malic acid complexes. And the method was also be used in the determination of organic acids in grapes. To the analog mixed sample the recovery rate was 99.6%~99.8%，and the RPEs was

**收稿日期**：2013-12-25

**基金项目**：国家自然科学基金项目(41263004)。

**作者简介**：加列西·马那甫(1964—)，男，新疆伊犁人，副教授，主要从事实用药物分析研究。E-mail：jialiexi@sina.cn

*通信作者：景伟文(1972—)，女，陕西华县人，理学博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事环境化学研究。E-mail：479218061@qq.com

0.64%~0.67%.

**Keywords**: response surfaceanalysis, extraction, grape, organic acids, simultaneous detection

葡萄系蔷薇科苹果亚科葡萄属树种，是营养丰富的一种滋补药品，果实含有大量的酒石酸、苹果酸和柠檬酸等有机酸，酚类、黄酮和维生素等物质。有机酸的组成与含量是决定葡萄果实风味和品质的重要因素之一，果实的味感大部分取决于甜味、酸味和苦味之间的平衡，尤其是酿酒葡萄中的有机酸对葡萄酒的稳定性和感官品质起着重要的作用。此外，有机酸的防腐特性可以增强葡萄酒微生物的稳定性，酸度较高的葡萄酒具有陈酿潜力。有机酸的积累与调控是葡萄品质控制的重要方面，是生产工艺中一项重要检测指标。因此提取、准确测定葡萄中有机酸的含量具有重要意义[1-3]。

目前食品有机酸的提取主要有煎煮法、浸渍法、回流提取法、索氏提取法及水蒸气蒸馏法等[4-6]。对于葡萄有机酸的提取工艺优化未见报道。索氏提取法简单，易于工业化生产。在单因素试验的基础上，采用响应面法[7]对葡萄有机酸的提取工艺进行优化，为提高葡萄资源的综合利用提供参考及理论依据。

食品中有机酸的测定方法主要有滴定法、色谱法、毛细管电泳法、光度法等[8-16]。色谱法和毛细管电泳法具有检出限低、准确、选择性好等优点，但需要大型仪器、试剂昂贵、有污染；滴定法终点指示清晰，反应灵敏，但只能滴定总有机酸；光度法适用广泛、操作简单，但只能测定单一组分，当相互干扰的多组分共存时，就必须预先进行分离。由于柠檬酸、酒石酸和苹果酸三组分的吸收光谱重叠，彼此相互干扰，无法对单一组分进行定量测定。采用响应面法优化葡萄有机酸的提取工艺，偏最小二乘法[18]对光谱重叠的柠檬酸、酒石酸和苹果酸三组分的模拟样品进行同时测定，并建立葡萄有机酸多组分同时定量分析的多元校正方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

材料：红提葡萄购于乌鲁木齐市超市。

试剂：柠檬酸、酒石酸、苹果酸、氢氧化钠、乙酸乙酯、乙醇，硫酸铜(分析纯)；实验用水为二次蒸馏水。

### 1.2 仪器与设备

TU-1810 型紫外-可见分光光度计：北京普析通用仪器有限责任公司产品；AL204-IC 型电子分析天平：上海梅特勒-托利多仪器有限公司产品。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 样品提取与含量测定** 精密称取红提葡萄样品约 5 g，置于索氏提取器内，加体积分数 75%乙醇浸泡 12 h，水浴加热回流提取 2 次，每次 2 h，提取液过滤，回收乙醇至无醇味。加质量分数 5%氢氧化钠溶液调 pH 值为 11.5，用乙酸乙酯反复萃取至萃取液无色，收集碱液，以盐酸调 pH 值为 2.0，用乙酸乙酯反复萃取至无色；合并萃取液，减压回收溶剂，蒸干。

加乙醇溶解以上固体样品并定容于 100 mL 容量瓶中。精取 2.00 mL，置于 50 mL 容量瓶中，依次加入 0.1 mol/L 硫酸铜溶液和 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 6 mL，加水稀释至刻度。在 650~900 nm 波长范围，间隔 1 nm，以试剂空白作参比，测定吸光度值，利用 Mtalab 编程计算葡萄中 3 种有机酸的含量(结果见表 6)。

**1.3.2 单因素试验** 以葡萄为原料，利用索氏提取法考察料液质量体积比、乙醇体积分数和 pH 值对葡萄有机酸提取率的影响。

**1.3.3 响应面法优化葡萄有机酸的条件** 综合单因素实验结果，根据 Box-Benhnken 中心组合实验设计原理，采用响应面法，在 3 因素 3 水平上对葡萄有机酸的提取条件进行优化研究。

**1.3.4 模拟混合试样的测定** 精取适量 1 mg/mL 的柠檬酸、酒石酸、苹果酸标准溶液于 50 mL 容量瓶中，加 4 mL 0.1 mol/L $CuSO_4$，2 mL 0.1 mol/L NaOH 溶液，加水定容至刻度，摇匀，配制成各单组分或 3 组分混合溶液，在 650~900 nm 波长范围，间隔 1 nm，对各单组分进行光谱扫描，得到吸收光谱图，并在此波长范围读取各单组分或 3 组分混合溶液的吸光度值。测定结果用 PLS 法处理，所用程序用 Matlab 自行编制。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

**2.1.1 料液比对有机酸提取率的影响** 保持其它条件(乙醇体积分数 75%,pH 值 11.5)不变,液料质量体积比为 1:13、1:14、1:15、1:16 和 1:17(g:mL)时,考察葡萄有机酸提取率的变化,试验结果表明,当料液比增加到 1:15(g:mL) 以后,提取率没有增加,因此料液比选择在 1:15(g:mL) 比较合适,结果如图 1 所示。

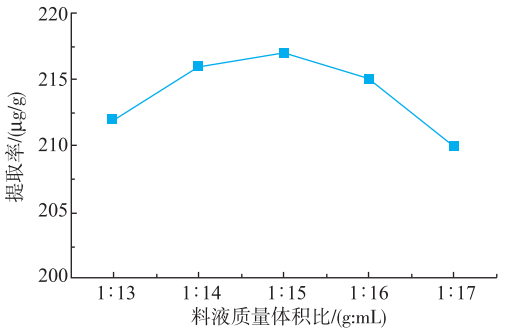



图 1 料液质量体积比对有机酸提取率的影响

**Fig. 1 Effects of ratio of solid to liquid on the organic acids extraction rate**

**2.1.2 乙醇体积分数对有机酸提取率的影响** 保持其它条件(料液质量体积比 1 g:15 mL,pH 值 11.5)不变,分别用体积分数 65%、70%、75%、80%和 85%乙醇进行提取,考察不同乙醇体积分数对葡萄有机酸提取率的影响。试验结果表明,乙醇体积分数在 75%时有机酸的提取效果最好,因此乙醇体积分数选择在 75%较为适宜(如图 2)。

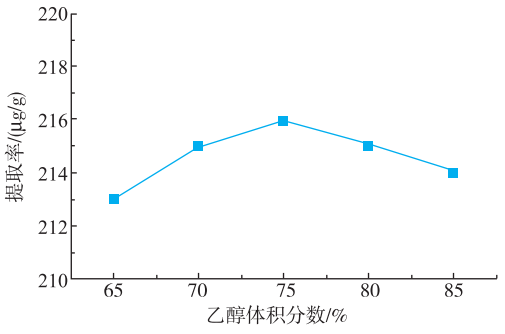



图 2 乙醇体积分数对有机酸提取率的影响

**Fig. 2 Effects of ethanol volume fraction on the organic acids extraction rate**

**2.1.3 pH 值对有机酸提取率的影响** 保持其它条件(料液质量体积比 1 g:15 mL,乙醇体积分数 75%)不变,pH 值分别为 10.5、11.0、11.5、12.0、12.5 时,考察葡萄有机酸提取率的变化。当 pH 值为 11.5 时,葡萄有机酸的提取效果最好,因此 pH 值选择在 11.5 较为适宜(如图 3)。

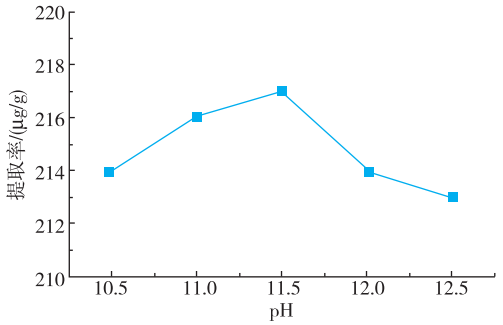



图 3 pH 值对有机酸提取率的影响

**Fig. 3 Effects of pH value on the organic acids extraction rate**

### 2.2 葡萄有机酸提取工艺参数优化

**2.2.1 响应面试验结果** 在前面单因素试验结果的基础上,以料液质量体积比($A$)、乙醇体积分数($B$)和 pH 值($C$)3 个因素为自变量,有机酸提取率($Y$)为响应值,设计三因素三水平的实验。实验设计和结果见表 1、表 2。

**2.2.2 模型的建立与方差分析** 根据 Box-Behnken 中心组合设计原理,利用 SAS9.1.3 软件,对表 2 中的实验数据进行多元回归拟合,可得料液比、乙醇体积分数和 pH 值与葡萄有机酸提取率的二次多元回归方程为:

$$Y=-755.500\ 00+44.875\ 00A+0.175\ 00B+104.000\ 00C+6.727\ 95E-015AB+1.500\ 00AC+0.500\ 00BC-2.000\ 00A^2-0.040\ 000B^2-7.000\ 00C^2$$

式中 $A$、$B$、$C$ 在设计中均经过量纲线性编码处理,各项系数的绝对值大小直接体现出各因素对响应值的影响程度大小,系数的正负反映了影响的方向。

表 1 Box-Behnken 试验设计因素与水平表

**Table 1 Factor and levels in Box-Behnken design**

| 水平 | 因素 | | |
|---|---|---|---|
| | 料液比 $A$/(g/mL) | 乙醇体积分数 $B$/% | pH $C$ |
| -1 | 1:14 | 70 | 11.0 |
| 0 | 1:15 | 75 | 11.5 |
| 1 | 1:16 | 80 | 120 |

表 2　响应面分析方案及试验结果

Table 2　Response surface design arrangement and experimental results

| 试验号 | *A* | *B* | *C* | *Y*/(μg/g) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | −1 | −1 | 213 |
| 2 | 0 | 1 | −1 | 210 |
| 3 | 0 | 1 | 1 | 216 |
| 4 | 1 | −1 | 0 | 215 |
| 5 | 1 | 0 | −1 | 213 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 216 |
| 7 | −1 | 0 | −1 | 209 |
| 8 | 1 | 1 | 0 | 214 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 217 |
| 10 | 0 | −1 | 1 | 214 |
| 11 | −1 | 1 | 0 | 211 |
| 12 | −1 | −1 | 0 | 212 |
| 13 | 1 | 0 | 1 | 217 |
| 14 | −1 | 0 | 1 | 210 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 215 |

对表 2 中的试验结果进行统计分析，得到的方差分析结果如表 3 所示。

表 3　回归模型的方差分析表

Table 3　Variance analysis of regression mode

| 变异来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | *F* 值 | *P* 值 | 显著性 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *A* | 36.12 | 1 | 36.12 | 31.41 | 0.002 5 | ** |
| *B* | 1.13 | 1 | 1.13 | 0.98 | 0.368 0 | |
| *C* | 18 | 1 | 18 | 15.65 | 0.010 8 | * |
| *AB* | 0 | 1 | 0 | 0 | 1.000 0 | |
| *AC* | 2.25 | 1 | 2.25 | 1.96 | 0.220 8 | |
| *BC* | 6.25 | 1 | 6.25 | 5.43 | 0.067 1 | |
| $A^2$ | 14.77 | 1 | 14.77 | 12.84 | 0.015 8 | * |
| $B^2$ | 3.69 | 1 | 3.69 | 3.2 | 0.133 1 | |
| $C^2$ | 11.31 | 1 | 11.31 | 9.83 | 0.025 8 | * |
| 回归模型 | 89.98 | 9 | 10 | 8.69 | 0.014 1 | * |
| 剩余 | 5.75 | 5 | 1.15 | | | |
| 失拟误差 | 3.75 | 3 | 1.25 | 1.25 | 0.473 3 | |
| 纯误差 | 2 | 2 | 1 | | | |
| 总和 | 95.73 | 14 | | | | |

注：* 表示差异显著，*P*<0.05；** 表示极显著，*P*<0.01。

由表 3 的回归方程中各变量对响应值影响的显著性，由 *F* 检验来判定，概率 *P* 值越小，则相应变量的显著程度越高。由方差分析表可知，方程模型 *F* 值为 93.99%，*P*<0.05，表明回归模型显著；失拟项 *F* 值为 1.25，*P* 值为 0.473 3>0.05，并且实验数据精密度 $R^2$=93.99%，表明失拟项相对于绝对误差是不显著的，说明该回归方程对实验拟合情况较好。各因素中一次项 *A* 是极显著，*C* 是显著；二次项中 *A* 和 *C* 是显著；交互项不显著，由此可见，各具体试验因素对响应值的影响不是简单的线性关系。

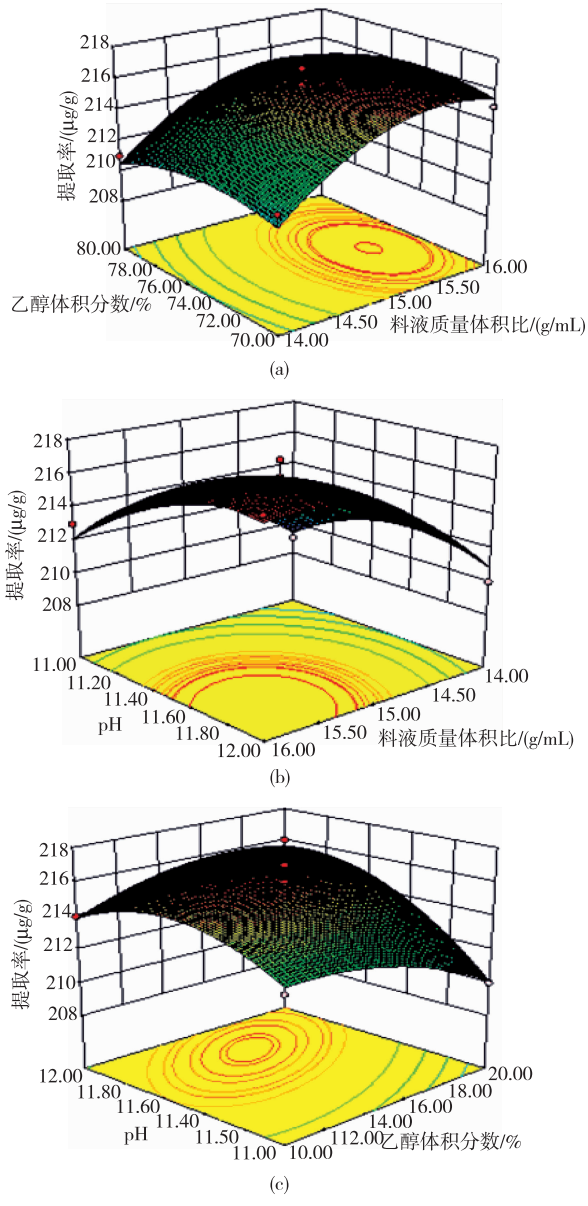



图 4　各因素交互作用的响应面和等高线图

Fig. 4　Response surface and contour line curves of various factors

为了观察某两个因素及其交互作用同时对提取率的影响,将其他因素条件保持不变,获得某两个因素及其交互作用对提取率影响的一元二次方程,响应曲面及其等高线图(见图 4)从而确定因素的最佳水平范围。响应曲面坡度的平缓与陡峭程度,表明在处理条件发生变异时葡萄有机酸提取率的响应灵敏程度,如果响应曲面坡度相对平缓,表明提取量可以忍受处理条件的变异,响应值不敏感;反之,如果响应曲面坡度非常陡峭,表明对于处理条件的变异,响应值非常敏感。等高线的形状如果为椭圆形,表示两因素交互作用显著。由图 4 可知,有机酸提取中料液质量体积比与乙醇体积分数、料液比与 pH 值、乙醇体积分数与 pH 值的交互作用不显著,与表 3 中交互项 $P$ 值的分析结果一致。

**2.2.3** *最佳提取条件的确定* 通过软件 SAS9.1.3 求解方程,得到葡萄有机酸的最佳提取条件:液料质量体积比 1:16(g/mL)、乙醇体积分数 76.37%、pH 值 11.87、对应的理论提取率响应值为 216.907 μg/g。该回归方程与实际情况很吻合,说明响应面优化葡萄有机酸的提取条件是可行的。

## 2.3 吸收光谱

按 1.3.4 项下的试验方法在 500~900 nm 波长范围绘制配合物的吸收光谱曲线,如图 2 所示。由图 5 可以看出,柠檬酸、酒石酸和苹果酸与硫酸铜形成的配合物吸收光谱重叠较严重,用传统的光度法难以对单一组分进行定量分析,借助化学计量学方法与光度法相结合可在不经分离的情况下对各组分进行同时测定。

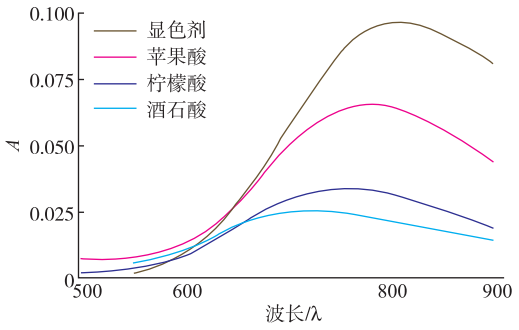



**图 5 吸收光谱图**

**Fig. 5 Abosrption spectrogram**

## 2.4 反应条件的优化

试验结果表明,选择硫酸铜溶液的加入量为 2.0 mL 后、在 1 h 之内,体系的吸光度值最大且稳定。柠檬酸、酒石酸和苹果酸的质量浓度分别在 50~87、70~103.5、150~215 μg/mL 范围内,遵守朗伯-比耳定律,具有良好的线性关系。

## 2.5 最佳计算测定条件的确定

**2.5.1** *加和性试验* 按 1.3.4 试验方法配制不同浓度的柠檬酸,酒石酸和苹果酸标准模拟混合试样和相应浓度的各纯标准溶液,在选定的波长处测定吸光度值,比较混合体系吸光度值 $A$ 与 3 组分纯溶液的吸光度加合值 $A_0$。试验结果表明,体系的 $|A-A_0|/A_0$ 均小于 0.1,体系吸光度的加和性好。

**2.5.2** *波长范围及波长间隔的确定* 利用多元校正法建立分析体系的校正模型时,波长范围及波长间隔的选择是建立模型和进行计算的关键步骤。为了检查波长范围对计算结果的影响,根据吸收曲线,在相同的波长间隔,不同的波长选择范围,对同一套模拟混合试样进行偏最小二乘法(PLS)计算,计算结果可知,对于此类模拟混合体系,波长范围的选择对计算结果产生严重影响,选择波长 500~900 nm 为最佳。在保证准确度前提下,选择 2 nm 的间隔为宜。

**2.5.3** *模拟混合试样的测定* 按正交设计表 $L_9(3^4)$ 配制 9 组不同质量浓度的 3 组分模拟混合试样作校正组(表 4),建立校正模型,测定不同波长处的吸光度。对另一 9 组不同浓度的 4 组分模拟混合试样预报组(表 5)进行测定,用偏最小二乘法(PLS)进行数据处理,相对预报误差(RPEs)、回收率列于表 5 中。

**表 4 模拟混合样品校正组质量浓度组成**

**Table 4 Composition of correction group of simulation mixed sample**

| 样品序号 | 质量浓度/(μg/mL) | | |
|---|---|---|---|
| | 柠檬酸 | 酒石酸 | 苹果酸 |
| 1 | 168.2 | 151.6 | 214.3 |
| 2 | 168.2 | 126.3 | 267.8 |
| 3 | 168.2 | 202.1 | 321.4 |
| 4 | 126.1 | 151.6 | 267.8 |
| 5 | 126.1 | 126.3 | 321.4 |
| 6 | 126.1 | 202.1 | 214.3 |
| 7 | 210.3 | 151.6 | 321.4 |
| 8 | 210.3 | 126.3 | 214.3 |
| 9 | 210.3 | 202.1 | 267.8 |

表 5　模拟混合样品预报组质量浓度组成、PLS 预测值及误差分析

Table 5　Composition, PLS prediction value and error analysis of predict group of simulation mixed sample

| 样品序号 | 预报组质量浓度/(μg/mL) | | | PLS 预测值/(μg/mL) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 柠檬酸 | 酒石酸 | 苹果酸 | 柠檬酸 | 酒石酸 | 苹果酸 |
| 1 | 84.1 | 101.1 | 160.7 | 82.5 | 100.8 | 160.5 |
| 2 | 84.1 | 151.6 | 214.3 | 85.6 | 151.5 | 214.8 |
| 3 | 84.1 | 202.1 | 267.8 | 83.8 | 201.9 | 267.8 |
| 4 | 168.2 | 101.1 | 214.3 | 168.0 | 101.2 | 213.6 |
| 5 | 168.2 | 151.6 | 267.8 | 166.7 | 150.1 | 266.0 |
| 6 | 168.2 | 202.1 | 160.7 | 167.7 | 202.5 | 159.2 |
| 7 | 252.4 | 101.1 | 267.8 | 251.6 | 99.8 | 268.0 |
| 8 | 252.4 | 151.6 | 160.7 | 252.6 | 151.7 | 161.0 |
| 9 | 252.4 | 202.1 | 214.3 | 252.1 | 200.5 | 213.6 |
| 平均误差/% | | | | 0.72 | 0.43 | 0.43 |
| 相对预报误差/% | | | | 0.64 | 0.67 | 0.66 |
| 回收率/% | | | | 99.8 | 99.6 | 99.8 |

### 2.6　样品测定结果

见表 6。

表 6　样品测定结果($n$=3)

Table 6　Determination results of samples($n$=3)

| 样品序号 | 柠檬酸/(μg/g) | 酒石酸/(μg/g) | 苹果/(μg/g) |
|---|---|---|---|
| 1 | 40.57 | 57.02 | 117.53 |
| 2 | 42.69 | 56.17 | 115.64 |
| 3 | 40.03 | 58.05 | 116.14 |
| 平均值 | 41.1 | 57.1 | 116.4 |

## 3　结　语

与正交设计法相比,响应面分析法在试验条件寻优过程中,可以连续对试验各水平进行分析和研究几种试验因素间的交互作用,求得高精密度的回归方程,具有实验设计简单,操作方便,精确度高等优点。作者在单因素试验的基础上,将响应面法应用于优化葡萄有机酸的提取工艺,得到的最佳工艺条件为:料液质量体积比 1:16(g/mL)、乙醇体积分数 76.37%、pH 值 11.87。此时葡萄有机酸的提取率可达 216.907 μg/g,与模型预测值基本一致。

由于生成的有机酸络合物吸收光谱重叠较严重,难以分离,无法对单一组分进行同时测定。采用的偏最小二乘法不仅解决了因重叠光谱造成测定某些物质选择性差而需进行繁琐的化学掩蔽和分离等问题,而且对浓度给出较准确的预报,从而减小测定误差。使用仪器简单,成本低,为食品有机酸类多组分的同时测定提供新的研究手段,具有一定的实用价值。

## 参考文献:

[1] 问亚琴,张艳芳,潘秋红. 葡萄果实有机酸的研究进展[J]. 海南大学学报,2009,27(3):302-306.
WEN Yaqin,ZHANG Yanfang,PAN Qiuhong. Progress on organic acids in grape berries [J]. **Natural Science Journal of Hainan University**,2009,27(3):302-306.(in Chinese)

[2] 陈虹颖,樊梦原,问亚琴,等. 几个酿酒葡萄品种及品系的有机酸分析[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2012(3):11-15.
CHEN Hongying,FAN Mengyuan,WEN Yaqin,et al. Analysis of organic acids in several varieties and clones of wine grapes[J]. **Sino-Overseas Grapevine & Wine**,2012(3):11-15.(in Chinese)

[3] 李成斌,李仙,刘煜宇,等. 葡萄发酵烟用香料的制备及挥发性成分分析[J]. 食品与生物技术学报,2012,31(8):891-894.
LI Chengbin,LI Xian,LIU Yuyu,et al. Preparation of grape as cigarette flavor by biological fermentation and the analysis of volatile composition[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2012,31(8):891-894.(in Chinese)

[4] 尹文清,张岩,宋鑫明,等. 石柑子总有机酸的提取工艺与含量测定[J]. 中药材,2009,32(1):124-125.

YIN Wenqing,ZHANG Yan,SONG Xinming,et al. Extraction process and content determination of total organic acids from pothos chinensis[J]. **Journal of Chinese Medicinal Materials**,2009,32(1):124-125.(in Chinese)

[5] 黄玉香,吴雅清,许瑞安. 有机酸提取技术研究进展[J]. 食品工业科技,2012,33(14):426-428.
HUANG Yuxiang,WU Yaqing,XU Ruian. Extraction techniques of organic acids [J]. **Science and Technology of Food Industry**,2012,33(14):426-428.(in Chinese)

[6] 董园园,董彩霞,卢颖林,等. 植物组织中有机酸的提取方法比较[J]. 南京农业大学学报,2005,28(4):140-143.
DONG Yuanyuan,DONG Caixia,LU Yinglin,et al. Study on the methods of extraction organ ic acids from different plant tissue by HPLC[J]. **Journal of Nanjing Agricultural University**,2005,28(4):140-143.(in Chinese)

[7] 彭晓霞,路莎莎. 响应面优化法在中药研究中的应用和发展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):297-298.
PENG Xiaoxia,LU Shasha. Application of response surface methodology in Chinese medicine development [J]. **Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae**,2011,17(19):297-298.(in Chinese)

[8] 潘利明,林励. 电位返滴定法测定玉叶金花中总有机酸的含量[J].广东药学院学报,2013,29(3):1-4.
PAN Liming,LIN Li. Determination of total organic acids from Mussaenda Pubescens Ait.f. by potentiometric back titration[J]. **Journal of Guangdong Pharmaceutical University**,2013,29(3):1-4.(in Chinese)

[9] 肖平,罗芬,池玉梅,等. 返滴定法测定天南星药材中总有机酸含量[J].南京中医药大学学报,2011,27(6):575-576.
XIAO Ping,LUO Fen,CHI Yumei,et al. Determination for total organic acids in rhizoma arisaematis by residual titration[J]. **Journal of Nanjing TCM University**,2011,27(6):575-576.(in Chinese)

[10] 陆建平,李郁,曹家兴. 主成分分析法-BP 神经网络算法用于电位滴定法测定有机酸[J].理化检验-化学分册,2011,47(5):504-506.
LU Jianping,LI Yu,CAO Jiaxing. Potentio-Titrimetric Determination of Organic Acids with the Algorithms of PCA and BP-ANN [J]. **Physical Testing and Chemical Analysis Part B(Chemical Analysis)**,2011,47(5):504-506.(in Chinese)

[11] 杨东伟,李晓静,王芬,等. 高效液相色谱法测定葡萄酒中 11 种有机酸含量[J]. 安徽农业科学,2013,41(3):1286-1287.
YANG Dongwei,LI Xiaojing,WANG Fen,et al. Simultaneous determination of eleven organic acids in wines by SPE-HPLC-PAD[J]. **Journal of Anhui Agri Sci**,2013,41(3):1286-1287.(in Chinese)

[12] 梁茂雨,刘钢湖. 红提葡萄中有机酸成分的 GC-MS 分析[J]. 食品研究与开发,2007,28(10):148-149.
LIANG Maoyu,LIU Ganghu. Determination of the contents of organic acids in grape by GC-MS [J]. **Food Research and Development**,2007,28(10):148-149.(in Chinese)

[13] 王红青,肖海龙,赵凯,等. 离子交换色谱法对 8 种有机酸含量的同时测定[J]. 分析测试学报,2011,30(9):1063-1066.
WANG Hongqing,XIAO Hailong,ZHAO Kai,et al. Simultaneous determination of 8 organic acids in fruit juice by ion exchange chromatography[J]. **Journal of Instrumental Analysis**,2011,30(9):1063-1066.(in Chinese)

[14] 王媚,吴皓. 中药有机酸类成分的提取分离及测定方法研究进展[J]. 南京中医药大学学报,2004,20(3):190-192.
WANG Mei,WU Hao. Research progress of extraction separation and determination of organic acid in Chinese medicine[J]. **Journal of Nanjing TCM University**,2004,20(3):190-192.(in Chinese)

[15] 邢丽红,李文龙,瞿海斌. 金银花提取物中 5 种有机酸含量测定的紫外光谱法[J]. 药物分析杂志,2011,31(3):547-551.
XING Lihong,LI Wenlong,QU Haibin. Rapid determination of 5 kinds of organic acid in Flos Lonicerae extracts by UV spectroscopy[J]. **Chinese Journal of Pharmaceutical**,2011,31(3):547-551.(in Chinese)

[16] 王岩,谢媛媛,孙嘉鸿,等. 菊花提取物中总黄酮与总有机酸的含量测定[J]. 沈阳药科大学,2011,28(2):124-129.
WANG Yan,XIE Yuanyuan,SUN Jiahong,et al. Quantitative determination of the total flavonoids and organic acids of Chrysanthemum morifolium extract[J]. **Journal of Shenyang Pharm aceutica lU niversity**,2011,28(2):124-129.(in Chinese)

[17] 杜一平,潘铁英,张玉兰. 化学计量学应用[M]. 北京:化学工业出版社,2008:159-163.