《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》

编制说明（征求意见稿）

一、项目来源

根据《广西农业农村产业振兴促进会关于〈芒果果实中有机酸测定 高效液相色谱法〉等6项团体标准立项的通知》文件要求，本标准由广西壮族自治区农业科学院农产品加工研究所提出，广西壮族自治区农业科学院农产品加工研究所提出、广西农业科学院农产品质量安全与检测技术研究所等单位共同起草。

二、制定标准的必要性和意义

芒果是一种营养丰富的热带水果，在我国广西、海南、云南、四川、台湾等地均有种植。芒果不仅含有丰富的维生素、矿物质和膳食纤维，还富含多种有机酸，如柠檬酸、苹果酸、酒石酸等。有机酸是芒果中重要的营养成分，同时也是影响芒果风味的重要因素之一。有机酸不仅影响着鲜食芒果的风味、营养价值以及保鲜效果。同时，还会影响芒果加工产品，如果汁、果干、果酱等的口感、质量。并且，在芒果的育种和栽培过程中，有机酸含量的测定能够为选育优质品种提供依据。因此，准确测定芒果果实中的有机酸含量，对于评估其质量、提升加工产品的品质以及优化种植技术具有重要意义。然而，目前关于芒果有机酸含量的测定并没有统一的标准。不同的实验室和研究机构使用不同的分析方法，导致测定结果之间存在一定差异。这些方法包括色谱法、滴定法和酶分析法等。由于每种方法的敏感性、准确性和成本不同，各方法在实际应用中也具有一定的局限性。因此，制定一个科学、合理且可操作性强的芒果果实有机酸测定标准，成为行业迫切的需求。

有机酸是芒果风味的核心成分之一，其含量直接影响果实的酸甜度和平衡感。通过标准化的有机酸测定方法，能够确保每个批次的芒果都具有一致的口感和风味，满足消费者对高品质水果的需求。此外，有机酸含量的准确控制可以帮助种植者更好地掌握果实的成熟度，确保在最佳时机采收，进而提高果实的整体品质。当前，不同国家或地区对芒果品质的要求存在差异，缺乏统一的有机酸测定标准可能导致贸易壁垒和质量纠纷。通过建立统一的测定标准，出口商可以更好地符合进口国的质量标准，减少因测定方法不一致引发的贸易争端，提升芒果在国际市场上的竞争力。在芒果加工产品，如果汁、果酱、果脯等生产中，有机酸含量

直接影响最终产品的风味、保质期以及感官特性。标准化的有机酸测定方法能够帮助加工企业更精准地控制原料质量，确保产品的稳定性与一致性。这对提高加工产品的市场认可度、减少因原料波动带来的成本浪费具有重要作用。通过精确测定不同品种芒果的有机酸含量，科研人员可以更好地开展芒果育种工作，选育出酸甜度更符合市场需求的品种。同时，标准的测定方法能够为农业技术的优化提供数据支持，帮助种植者在栽培过程中调整施肥、灌溉和管理方式，从而提高芒果的产量和质量。因此，本项目拟建立以芒果果实中以草酸、酒石酸、奎宁酸、苹果酸、 α -同戊二酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、富马酸、琥珀酸、没食子酸的有机酸分析方法高效液相色谱检测方法，进而推动整个芒果产业链健康、可持续发展。

三、主要起草过程

（一）成立标准编写组

团体标准《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》项目任务下达后，广西壮族自治区农业科学院农产品加工研究所成立了标准编写组，标准编写组制定了编写方案与时间进度表，明确任务职责，各阶段完成的工作，确定工作技术路线，开展标准研制工作。

标准编写组负责起草标准草案、征求意见稿、送审稿及编制说明的编写工作，包括后期召开征求意见会、网上征求意见、定向征求意见等，以及标准的不断修改和完善，标准发布后，组织相关单位、企业和农民开展标准宣贯培训会，对标准进行详细解读，让相关的工作人员了解标准，并根据标准进行操作，规范芒果中有机酸的测定方法，并对标准实施情况进行总结分析，不断对该团体标准提出修正意见。

（二）收集整理文献资料

在中国标准服务网 (<https://www.cssn.net.cn/cssn/index>) 查询与“有机酸”相关的标准，结果显示如下：

NY/T 2796-2015 水果中有机酸的测定 离子色谱法

GB 5009.157-2016 食品安全国家标准 食品中有机酸的测定

NB/T 12004-2016 费托合成水中有机酸、醇、醛、酮的测定

SN/T 4675.5-2016 出口葡萄酒中有机酸的测定 离子色谱法

NY/T 2277-2012 水果蔬菜中有机酸和阴离子的测定 离子色谱法

DB34/T 3053-2017 白酒中非挥发性有机酸的测定 高效液相色谱-串联质谱法
HJ 1004-2018 环境空气 降水中有有机酸（乙酸、甲酸和草酸）的测定 离子色谱法

SH/T 0329-1992 润滑脂游离碱和游离有机酸测定法

YC/T 500-2014 烟草及烟草制品 挥发性有机酸的测定 气相色谱-质谱联用法

GB/T 8657-2014 苯乙烯-丁二烯生橡胶 皂和有机酸含量的测定

T/CRHA 060-2024 尿液有机酸检测 气相色谱-质谱联用法

T/ZJATA 0011-2022 土壤有机酸（甲酸、乙酸、丙酸、丙烯酸）的测定 高效液相色谱法

T/DALN 037-2024 青贮饲料有机酸含量的测定 高效液相色谱法

T/NAIA 0200-2023 葡萄酒中多种有机酸的测定 高效液相色谱法

T/NAIA 0292-2024 枸杞及其制品中 3 种有机酸的测定 气相色谱法

T/NAIA 0207-2023 酿酒葡萄及葡萄酒中有机酸的测定 液相色谱-质谱法

T/NAIA 098-2021 酿酒葡萄及葡萄酒中有机酸含量的测定 离子色谱法

综上分析，、GB 5009.157-2016《食品安全国家标准 食品中有机酸的测定》的标准规定了食品中酒石酸、乳酸、苹果酸、柠檬酸、丁二酸、富马酸和己二酸的测定方法。适用于果汁及果汁饮料、碳酸饮料、固体饮料、胶基糖果、饼干、糕点、果冻、水果罐头、生湿面制品和烘焙食品馅料中 7 种有机酸的测定。因此，利用高效液相色谱法测定芒果果实中有机酸的标准暂无，制定团体标准《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》，掌握草酸、酒石酸、奎宁酸、苹果酸、 α -同戊二酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、富马酸、琥珀酸、没食子酸的含量情况，对推动整个芒果产业链健康、可持续发展。

（三）研讨确定标准主要内容

标准编写组在对收集的资料进行整理研究之后，标准编写组召开了标准研制会议，对标准的整体框架结构进行了研究，并对标准的关键性内容进行了初步探讨。经过研究，标准的主要内容确定为技术原理、试剂耗材、仪器设备、试验方法、结果分析。

（四）调研、形成征求意见稿

2024 年 10 月~12 月，标准编写组进行了广泛实地调研工作，查阅了大量的

国内外文献资料,对高效液相色谱法在芒果果实中有机酸分析测定的研究成果进行系统总结。形成了标准的基本构架,对主要内容进行了讨论并对项目的工作进行了部署和安排,按照简化、统一等原则编制完成团体标准《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》(草案)。

2025年1月~3月,向涉及相关领域的部门及专家征求团体标准《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》(草案)意见。根据标准要点框架技术内容,再次修改标准草案,形成团体标准《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》(征求意见稿)及编制说明(征求意见稿)。

四、制定标准的原则和依据,与现行法律、法规的关系,与有关国家标准、行业标准的协调情况

经查阅,国内外未制定有与利用高效液相色谱法分析芒果果实中有机酸的相关标准。

本标准根据 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》规定的格式编写,本标准的内容与现行的法律、法规及国家标准、行业标准无冲突,并承诺本标准内容与各项指标不低于国家标准和行业标准。

五、主要条款的说明,主要技术指标、参数、试验验证的论述

(一) 标准主要内容

本文件主要章节内容包括: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、试验方法、结果分析。

(二) 技术指标、参数、试验验证的论述

1 试验材料

取有代表性样品约 500 g,粉碎机打浆、混匀, -20 ℃ 冷冻保存, 备用。

1.1 试剂与材料

磷酸二氢钾(分析纯、索莱宝),磷酸(分析纯、阿拉丁),甲醇(色谱纯、),纯净水(纯净水、娃哈哈);标准品信息如下:酒石酸(≥98%)、奎宁酸、α-酮戊二酸(≥98%)、富马酸(≥98%)由上海源叶生物科技有限公司提供;草酸(≥98%)由上海阿拉丁生化科技股份有限公司提供;苹果酸(≥98%)由曼斯特(成都)生物科技有限公司提供;乳酸(≥98%)、乙酸(≥98%)由上海麦克林生化科技股份有限公司提供;柠檬酸(≥98%)、琥珀酸(≥98%)、

没食子酸(≥98%)由北京索莱宝科技有限公司提供。

1.2 溶液

流动相:称取磷酸二氢钾 1.3609 g,用纯净水定容至 1000 mL,配成 0.01mol/L 的磷酸二氢钾溶液,随后用磷酸调节 pH 至 2.8;取 15 mL 的甲醇加入 985 mL 的磷酸二氢钾溶液(pH2.8)中,混匀。

标准储备液:分别称取奎宁酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸标准品 200.00 mg(精确至 0.01 mg),用纯净水定容至 10 mL,配成 20 g/L 的标准储备液;草酸标准品 100.00 mg 用纯净水定容至 10 mL 配成 10 g/L 的标准储备液;a-酮戊二酸、富马酸、没食子酸标准品 40.00 mg 用纯净水定容至 10 mL 配成 4 g/L 的标准储备液,-20 °C 避光保存,可使用 12 个月。

混合标准储备液配置:移取草酸、酒石酸、奎宁酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸、a-酮戊二酸、富马酸、没食子酸标准储备液各 1.0 mL 于同一 25 mL 容量瓶中,用纯净水定容至刻度线,奎宁酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸配置成浓度为 800 mg/L;草酸配置成浓度为 400 mg/L;a-酮戊二酸、富马酸、没食子酸配置成浓度为 160 mg/L 的混合标准中间液,-20 °C 避光保存,有效期 12 个月。

1.3 仪器与设备

多功能粉碎机(FLC-400A,永康市红太阳机电有限公司),高速冷冻离心机(SIGMA 3-18KS, Sigma Laborzentrifugen GmbH),纯净水(5.5 L,杭州娃哈哈集团有限公司),旋涡混合器(VM-B,上海舍岩仪器有限公司),高效液相色谱(岛津 LC-AR20-PDA, Shimadzu Corporation)。

2 试样的制备

①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。

②将切好的芒果果肉放入液氮中快速冷冻(约 1-2 分钟),使用研钵或球磨机在液氮环境下将冷冻的芒果果肉研磨成细粉。搅拌均匀,分装到干净的瓶子里,密闭冷藏或冷冻保存。

3 检测组分的确定

基于高效液相色谱对全国 40 份芒果样品中 11 种有机酸进行定量分析,发现

草酸、酒石酸、奎宁酸、苹果酸、 α -酮戊二酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、富马酸、琥珀酸、没食子酸平均含量范围依次是 250.14~571.40 mg/kg、314.63~2161.58 mg/kg、248.42~2451.12 mg/kg、211.27~2524.91 mg/kg、4.58~120.95 mg/kg、237.71~3138.76 mg/kg、78.90~2205.69 mg/kg、875.53~13411 mg/kg、0.44~13.19 mg/kg、64.01~1541.38 mg/kg、2.59~133.97 mg/kg。柠檬酸、乳酸、苹果酸、奎宁酸、酒石酸、琥珀酸、乙酸、草酸总含量占各有机酸总量的 99.00% 以上，其中柠檬酸、乳酸、苹果酸三个物质占各有机酸总量的 70.00% 以上，可作为芒果中的特征有机酸（图 1A、B、C）。且柠檬酸、乳酸、苹果酸、奎宁酸、酒石酸、琥珀酸、乙酸、草酸含量高、占比大，因此采用高效液相色谱法测定。

图 1 芒果果实中 11 种有机酸物质含量

4 高效液相色谱法测定芒果中草酸、酒石酸、奎宁酸、苹果酸、 α -酮戊二酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、富马酸、琥珀酸、没食子酸的含量。

4.1 检测波长的确定

高效液相色谱 (HPLC) 测定有机酸时, 使用紫外检测器 (UV-Vis) 通常选择在 190~220 nm 之间的波长。这是因为有机酸 (如乙酸、乳酸、柠檬酸等) 通常在紫外光谱的远紫外区具有吸收峰。这一区域的吸收主要与有机酸的羧基 (-COOH) 基团相关。190 nm 适合检测吸光能力较弱的有机酸。210~220 nm 适合多数有机酸的检测, 因为许多有机酸在此范围内具有较好的吸收。本方法选择扫描波长范围 190~300 nm, 对草酸、酒石酸、奎宁酸、苹果酸、 α -酮戊二酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、富马酸、琥珀酸、没食子酸分别进行光谱扫描。由图 2 扫描结果可知, 11 种有机酸在 190~220 nm 之间均只有一个强度最高的吸收峰, 且均在 210 nm 附近。因此, 试验选择 210 nm 作为草酸、酒石酸、奎宁酸、苹果酸、 α -酮戊二酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、富马酸、琥珀酸、没食子酸 11 种物质的检测波长。

图 2 11 种有机酸标准工作液扫描图

4.2 液相色谱检测条件的确定

试验中分别选择了 Shim-pack GIS C18 (5 μ m, 4.6 $\times$ 250mm)、Perfect T3 (5 μ m 4.6 $\times$ 250mm) 色谱柱, 采用 0.01 mol/L pH2.8 磷酸二氢钾中含 3% 甲醇体系为流动相, 在流速 0.8 ml/min、柱温 32 $^{\circ}$ C 的条件下进行等度洗脱。结果表明 Shim-pack GIS C18 峰型偏圆, Perfect T3 峰型较好, 能将有机酸分离开来 (图 3)。因此, 试验确定色谱柱为 Perfect T3。

图 3 Perfect T3 出峰图

进一步对流动相流速进行优化, 选用 0.01 mol/L pH2.8 磷酸二氢钾中含 3% 甲醇体系, 设置 0.8 ml/min 和 0.5 ml/min 两种流速, 在柱温 32 $^{\circ}$ C 的条件下进行等度洗脱。结果表明流动相流速为 0.5 ml/min 时, 有机酸出峰效果最好 (图 4)。

图 4 有机酸标准品色谱图

再进一步对流动相体系进行优化, 分别选用 0.01 mol/L pH2.8 磷酸二氢钾中含 3% 甲醇和 0.01 mol/L pH2.8 磷酸二氢钾中含 1.5% 甲醇两种体系, 在流速 0.8 ml/min、柱温 32 $^{\circ}$ C 的条件下进行等度洗脱。结果表明, 以 0.01 mol/L pH2.8 磷酸二氢钾中含 1.5% 甲醇为流动相时, 有机酸出峰效果最好 (图 5)。

图 5 11 种有机酸标准品色谱图

图 6 台农芒果中 11 种有机酸色谱图

4.3 检测方法

称取液氮打粉后的果粉 10.0 g (精确至 0.001 g) 于离心管中, 至于 4 °C 条件下, 待果粉溶解后于 8000 r/min、4 °C 条件下离心 10 min, 取上清液, 根据样品特性稀释 5 至 10 倍后, 过 0.22 μm 水相微孔滤膜后, 待高效液相色谱仪测定。

4.4 方法的准确的、精密度及标准曲线

在进行方法准确度与精密度之前, 首先对全国 40 份芒果样品进行检测, 发现草酸、酒石酸、奎宁酸、苹果酸、α-酮戊二酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、富马酸、琥珀酸、没食子酸含量最多 582.40 mg/kg、2239.063 mg/kg、2631.14 mg/kg、2568.70 mg/kg、123.31 mg/kg、3242.47 mg/kg、2345.06 mg/kg、13434.34 mg/kg、14.83 mg/kg、1731.58 mg/kg、152.51mg/kg, 平均值依次为含量范围依次是 250.14~571.40 mg/kg, 314.63~2161.58 mg/kg, 248.41~2502.28 mg/kg, 211.27~2524.91 mg/kg, 0~120.95 mg/kg, 237.71~3187.08 mg/kg, 78.90~2205.70 mg/kg, 875.53~13411.24 mg/kg, 0.44~13.18 mg/kg, 0~1541.39 mg/kg, 0~133.97 mg/kg。设置 25 mg/kg、250 mg/kg、500 mg/kg 三个浓度的添加水平, 计算回收率, 确定方法准确性及精密度, 结果见表 2。

表 1 方法的准确度、精密度 (n=3)

组分	试样组分浓度 (mg/kg)	理论加标浓度 (mg/kg)	加标试样组分浓度 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
草酸	10.17	25	34.72	98.20	95.91	2.30
			33.57	93.60		
			34.15	95.92		
	250	35.99	103.28	103.32	0.18	

			36.05	103.52		
			35.96	103.16		
		500	528.10	103.59	96.07	6.53
			469.57	91.88		
			473.82	92.73		
酒石酸	15.79	25	42.29	106.00	105.81	0.62
			42.37	106.32		
			42.07	105.12		
		250	287.86	108.83	101.88	6.03
			262.72	98.77		
			260.92	98.05		
		500	518.09	100.46	102.45	2.95
			545.00	105.84		
			521.05	101.05		
奎宁酸	12.42	25	38.03	102.44	104.60	4.20
			39.78	109.44		
			37.90	101.92		
		250	268.77	102.54	102.21	3.18
			259.60	98.87		
			275.44	105.21		
		500	540.00	105.51	107.49	2.17
			561.52	109.82		
			548.15	107.15		
苹果酸	50.52	25	73.66	92.56	94.63	2.12
			74.72	96.80		
			74.15	94.52		
		250	279.62	98.84	98.57	0.27
			296.27	98.30		
			296.94	98.57		

		500	562.07	102.31	102.72	0.42
			566.22	103.14		
			564.12	102.72		
a-酮戊二酸	6.05	25	30.27	96.88	93.92	2.96
			28.79	90.96		
			39.53	93.92		
		250	257.86	100.72	100.31	2.45
			250.25	97.68		
			262.40	102.54		
		500	546.55	108.10	107.54	0.55
			541.00	106.99		
			543.80	107.55		
乳酸	35.31	25	62.25	107.76	105.57	2.09
			61.21	103.60		
			61.65	105.36		
		250	305.86	108.22	106.70	2.85
			306.50	108.48		
			293.83	103.41		
		500	570.31	107.00	104.26	2.58
			544.66	101.87		
			554.86	103.91		
乙酸	25.20	25	50.02	99.28	97.36	1.92
			49.06	95.44		
			49.54	97.36		
		250	270.72	98.21	98.69	0.448
			373.15	99.18		
			271.92	98.69		
		500	536.25	102.21	103.70	1.32
			546.11	104.15		

			548.80	104.72		
柠檬酸	195.86	25	221.84	103.92	104.36	3.16
			221.22	101.44		
			222.79	107.72		
		250	461.31	106.18	105.44	0.74
			457.63	104.71		
			459.46	105.44		
		500	706.81	102.19	102.13	0.07
			706.11	102.05		
			706.56	102.14		
富马酸	2.61	25	28.96	105.40	106.12	0.72
			29.32	106.84		
			29.14	106.12		
		250	263.52	104.36	103.52	0.84
			259.30	102.68		
			261.40	103.52		
		500	507.40	100.96	102.01	1.05
			517.95	103.07		
			512.65	102.01		
琥珀酸	49.91	25	74.15	96.96	98.20	1.24
			74.77	99.44		
			74.46	98.20		
		250	293.45	97.42	96.64	0.89
			292.00	96.84		
			289.08	95.67		
		500	501.06	90.23	92.88	2.33
			518.71	93.76		
			523.10	94.64		
没食子酸	3.33	25	28.20	99.48	99.77	0.44

			28.40	100.28		
			28.22	99.56		
		250	260.33	102.80	101.93	1.02
			258.78	102.18		
			255.35	100.81		
		500	527.05	104.74	103.89	0.84
			518.60	103.05		
			522.80	103.89		

表 2 仪器精密度测试

组分	浓度 (mg/L)	峰面积			RSD
草酸	80.00	573997	579034	576515	0.44
酒石酸	400.00	420768	413068	416918	0.92
奎宁酸	800.00	494747	508533	501640	1.37
苹果酸	800.00	542372	538548	540460	0.35
a-酮戊二酸	16.00	360182	356253	358217	0.55
乳酸	800.00	322753	318897	320825	0.60
乙酸	800.00	379928	373580	376754	0.84
柠檬酸	800.00	694231	675359	684795	1.38
富马酸	16.00	1352050	1323019	1337535	1.08
琥珀酸	800.00	398647	386644	392645	1.53
没食子酸	16.00	1880817	1824803	1852810	1.51

采用 2 倍稀释法对混合标准溶液进行梯度稀释, 得到系列浓度, 图 7 为不同稀释梯度下有机酸的色谱图, 确定方法的校准曲线及相关系数, 结果见表 3。

图 7 不同稀释梯度下有机酸的色谱图

表 3 有机酸标准物质的线性关系

序号	组分	线性范围 (mg/L)	线性方程	相关系数 R ²
1	草酸	3.125~400	$y=7710x-9540.6$	0.9992
2	酒石酸	6.25~800	$y=1801.4x-1631.1$	0.9993
3	奎宁酸	6.25~800	$y=191.08x+4791.5$	0.9999
4	苹果酸	6.25~800	$y=739.24x+290.79$	0.9997
5	a-酮戊二酸	1.25~160	$y=1796.25x-1585.6$	0.9989
6	乳酸	6.25~800	$y=382.81x-509.86$	0.9993
7	乙酸	6.25~800	$y=509.53x-657.24$	0.9995
8	柠檬酸	6.25~800	$y=811.76x+285.22$	0.9990
9	富马酸	1.25~160	$y=10416x-1573.5$	0.9997
10	琥珀酸	6.25~800	$y=516.21x-1050.5$	0.9997
11	没食子酸	1.25~160	$y=12763x-4730.9$	0.9997

试验结果表明, 25 mg/kg、250 mg/kg、500 mg/kg 三个浓度添加水平, 芒果果实中有机酸的平均回收率在 92.88%~107.54%之间, 相对标准偏差在 0.07%~6.53%之间, 10 种有机酸在液相色谱仪上响应值的 RSD 为 0.44%~1.57%之间, 试验建立的芒果果实中有机酸的液相色谱测定方法能满足分析检测的要求。富马酸、没食子酸在 0.5 mg/L~16 mg/L, α -酮戊二酸在 2 mg/L~16 mg/L, 草酸在 2.5 mg/L~80 mg/L, 酒石酸在 12.5 mg/L~400 mg/L, 奎宁酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸在 25 mg/L~800 mg/L 的范围内具有良好的线性关系, 相关系数在 0.999 以上, 依据《食品卫生检验方法 理化部分 总则》(GB/T 5009.1-2003)附录 A 和《实验室质量控制规范 食品理化检测》(GB/T 27404-2008), 采用上清液直接稀释测定的方法, 确定本方法草酸检出限为 1.562 mg/kg, 定量限为 3.125 mg/kg; 酒石酸检出限为 3.125 mg/kg, 定量限为 6.25 mg/kg; 奎宁酸检出限为 3.125 mg/kg, 定量限为 6.25 mg/kg; 苹果酸检出限为 3.125 mg/kg, 定量限为 6.25 mg/kg; 乳酸检出限为 3.125 mg/kg, 定量限为 6.25 mg/kg; 乙酸检出限为 3.125 mg/kg, 定量限为 6.25 mg/kg; 柠檬酸检出限为 3.125 mg/kg, 定量限为 6.25 mg/kg; 富马酸检出限为 1.25 mg/kg, 定量限为 0.625 mg/kg; 琥珀酸检出限为 3.125 mg/kg, 定量限为 6.25 mg/kg; 没食子酸检出限为 1.25 mg/kg, 定量限为 0.625 mg/kg; α -酮戊二酸检出限为 1.25 mg/kg, 定量限为 0.625 mg/kg。

4.5 方法的验证

不同产地的芒果果实中有机酸含量差异较大, 我国芒果主产区有广西壮族自治区、海南省、云南省、四川省, 采用 3.4.3 的检测方法, 进行 25 mg/kg、250 mg/kg、500 mg/kg 三个浓度水平的添加, 每个浓度水平 3 个重复, 按照已确定的检测方法处理样品, 计算回收率。试验结果表明, 25 mg/kg、250 mg/kg、500 mg/kg 三个浓度添加水平, 不同产地的芒果果实中有机酸的平均回收率在 95.37%~107.94%之间, 相对标准偏差在 0.04%~7.95%之间(表 4~表 7)。

表 4 方法验证: 广西壮族自治区台农芒果 (n=3)

组分	试样组分浓度 (mg/kg)	理论加标浓度 (mg/kg)	加标试样组分浓度 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD(%)
草酸	38.63	25	61.75	92.48	94.52	2.06

			62.72	96.36		
			62.31	94.72		
		250	270.53	92.76	95.95	3.00
			280.43	96.72		
			284.53	98.36		
		500	533.03	98.88	99.96	1.16
			537.70	99.81		
			544.54	101.18		
		酒石酸	33.60	25	59.49	103.56
60.08	105.92					
60.20	106.40					
250	290.05			102.58	105.22	2.64
	296.00			104.96		
	303.87			108.11		
500	525.35			98.35	94.23	3.81
	496.55			92.59		
	492.40			91.76		
奎宁酸	42.58	25	65.72	92.56	95.43	2.64
			66.91	97.32		
			66.68	96.40		
		250	313.98	108.56	102.15	5.59
			293.30	100.29		
			286.58	97.60		
		500	554.44	102.37	105.39	3.52
			590.25	109.53		
			563.90	104.26		
苹果酸	211.53	25	234.42	91.56	94.23	3.72
			236.08	98.20		
			234.79	92.92		

		250	460.07	99.42	104.41	4.42
			471.75	105.29		
			482.83	108.52		
		500	739.98	105.69	107.90	1.98
			761.28	109.95		
			751.86	108.07		
a-酮戊二酸	8.56	25	31.43	91.48	92.93	4.00
			31.10	90.16		
			32.85	97.16		
		250	275.62	106.82	104.14	2.28
			266.78	103.29		
			264.32	102.30		
		500	522.60	102.81	101.21	2.28
			519.91	102.27		
			501.35	98.56		
乳酸	20.68	25	45.32	98.56	95.31	4.50
			44.91	96.92		
			43.29	90.44		
		250	277.83	102.86	104.59	2.20
			288.68	107.20		
			279.99	103.72		
		500	530.15	101.89	102.06	2.47
			518.81	99.63		
			543.97	104.66		
乙酸	36.49	25	62.87	105.52	97.07	7.95
			59.09	90.40		
			60.31	95.28		
		250	282.44	98.38	99.29	3.99
			276.14	95.86		

			295.55	103.62		
		500	544.47	101.60	104.47	2.39
			567.14	106.13		
			564.91	105.68		
柠檬酸	30.43	25	57.12	106.76	98.95	7.28
			53.57	92.56		
			54.81	97.52		
		250	276.12	98.28	99.23	1.19
			281.83	100.56		
			277.59	98.86		
		500	539.12	101.74	104.39	2.99
			548.38	103.59		
			569.57	107.83		
富马酸	5.98	25	30.81	99.32	98.63	4.62
			31.68	102.80		
			29.42	93.76		
		250	266.67	104.28	104.27	1.22
			263.46	102.99		
			269.81	105.53		
		500	547.93	108.39	104.57	3.27
			523.46	103.50		
			515.04	101.81		
琥珀酸	32.00	25	57.86	103.44	95.65	7.11
			54.71	90.84		
			55.17	92.68		
		250	277.99	98.40	102.09	3.92
			297.86	106.34		
			285.85	101.54		
		500	571.97	107.99	107.94	0.61

			568.27	107.25		
			574.86	108.54		
没食子酸	14.50	25	38.15	94.60	95.84	4.70
			39.71	100.84		
			37.52	92.08		
		250	252.81	95.32	95.45	4.91
			241.59	90.83		
			265.03	100.21		
		500	535.76	104.25	102.43	2.04
			528.97	102.89		
			515.0	100.14		

表 5 方法验证：海南省台农芒果 (n=3)

组分	试样组分浓度 (mg/kg)	理论加标浓度 (mg/kg)	加标试样组分浓度 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD(%)
草酸	34.96	25	61.67	106.84	104.34	4.03
			59.83	99.48		
			61.64	106.72		
		250	291.26	102.52	99.18	3.92
			272.24	94.91		
			285.25	100.12		
		500	549.58	102.92	100.70	2.08
			537.02	100.41		
			528.75	98.76		
酒石酸	39.73	25	64.42	98.76	100.25	1.73
			65.27	102.16		
			64.69	99.84		
		250	295.37	102.26	100.49	1.58
			289.79	100.02		
			287.69	99.18		

		500	540.13	100.08	100.43	0.66
			544.72	101.00		
			545.75	101.20		
奎宁酸	25.55	25	50.21	98.64	100.64	5.41
			52.25	106.80		
			49.67	96.48		
		250	269.05	97.40	96.27	1.99
			260.72	94.07		
			268.98	97.37		
		500	528.75	100.64	100.29	0.39
			527.41	100.37		
			524.84	99.86		
苹果酸	32.60	25	59.19	106.36	105.96	1.54
			59.44	107.36		
			58.64	104.16		
		250	283.21	100.24	100.07	1.20
			285.56	101.18		
			297.57	98.79		
		500	532.09	99.90	99.82	0.40
			533.44	100.17		
			529.49	99.38		
a-酮戊二酸	6.74	25	30.65	95.64	99.49	3.46
			32.31	102.28		
			31.88	100.56		
		250	263.72	102.79	102.70	0.08
			263.33	102.64		
			263.41	102.67		
		500	509.81	100.61	100.50	0.10
			509.13	100.48		

			508.74	100.40		
乳酸	10.98	25	34.25	98.08	94.98	3.42
			34.80	95.28		
			33.88	91.60		
		250	261.89	100.36	100.04	0.66
			259.29	99.32		
			261.50	100.21		
		500	513.80	100.56	99.71	0.81
			505.49	98.90		
			508.98	99.60		
乙酸	14.89	25	38.75	95.56	93.35	2.52
			37.58	90.88		
			38.26	93.60		
		250	277.24	104.95	96.42	7.81
			241.58	90.69		
			248.94	93.63		
		500	532.90	103.61	102.48	0.71
			528.70	102.77		
			525.60	102.15		
柠檬酸	25.43	25	50.77	101.36	97.92	3.34
			49.82	97.56		
			49.14	94.84		
		250	275.80	100.15	98.27	2.48
			264.21	95.51		
			273.30	99.15		
		500	527.00	100.31	103.90	3.08
			550.30	104.97		
			557.60	106.43		
富马酸	9.28	25	34.83	102.20	98.99	3.36

			34.08	99.20		
			33.17	95.56		
		250	259.12	99.94	101.53	2.09
			269.12	103.94		
			261.03	100.70		
		500	509.03	99.95	100.00	0.04
			509.33	100.01		
			509.47	100.04		
		琥珀酸	19.42	25	45.97	106.20
43.24	95.28					
45.01	102.36					
250	273.88			101.78	101.39	1.41
	275.87			102.58		
	268.95			99.81		
500	514.28			98.97	99.67	0.61
	519.53			100.02		
	519.50			100.02		
没食子酸	5.80	25	28.48	90.72	99.44	8.31
			30.91	100.44		
			32.59	107.16		
		250	252.75	98.78	99.62	0.73
			256.07	100.11		
			255.69	99.96		
		500	506.11	100.06	100.00	0.06
			505.77	99.99		
			505.52	99.94		

表 6 方法验证：云南台农芒果（n=3）

组分	试样组分浓度 (mg/kg)	理论加标浓度 (mg/kg)	加标试样组分浓度 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
----	----------------	----------------	------------------	---------	-----------	---------

草酸	42.72	25	68.50	103.12	105.25	2.34
			68.89	104.68		
			69.71	107.96		
		250	294.95	100.89	103.56	2.73
			300.86	103.26		
			309.02	106.52		
		500	553.68	102.19	102.72	0.47
			558.9	103.13		
			556.96	102.85		
酒石酸	80.44	25	103.82	93.52	97.35	7.90
			106.99	106.20		
			103.52	92.32		
		250	340.72	104.11	105.60	1.55
			343.79	105.34		
			348.83	107.36		
		500	592.35	102.38	101.73	0.97
			591.51	102.21		
			583.38	100.59		
奎宁酸	33.94	25	62.97	94.12	96.41	4.45
			64.78	101.36		
			62.88	93.76		
		250	298.86	103.69	102.83	0.89
			294.08	101.86		
			296.80	102.94		
		500	550.50	102.21	103.76	1.36
			564.25	104.96		
			560.05	104.12		
苹果酸	23.21	25	49.38	104.68	106.79	1.72
			50.12	107.64		

			50.22	108.04		
		250	262.30	95.64	95.65	2.11
			267.40	97.68		
			257.30	93.64		
		500	523.86	100.13	100.11	0.10
			524.19	100.20		
			523.21	100.00		
a-酮戊二酸	4.58	25	30.36	103.12	96.59	6.23
			28.42	95.36		
			27.40	91.28		
		250	249.02	97.79	96.52	1.30
			242.75	95.27		
			245.80	96.49		
		500	500.02	99.09	99.58	0.43
			503.94	99.87		
			503.52	99.79		
乳酸	10.31	25	35.78	101.88	101.00	2.19
			35.97	102.64		
			34.93	98.48		
		250	259.54	99.69	99.89	0.56
			261.61	100.52		
			258.93	99.45		
		500	516.25	101.19	101.29	0.15
			516.36	101.21		
			517.63	101.46		
乙酸	19.92	25	43.87	95.80	103.31	6.40
			46.99	108.28		
			46.38	105.84		
		250	278.70	103.51	103.56	0.18

			278.42	103.40		
			279.32	103.76		
		500	515.55	99.13	99.34	0.28
			518.20	99.66		
			516.13	99.24		
柠檬酸	44.12	25	70.55	105.72	106.04	1.49
			70.28	104.64		
			71.06	107.76		
		250	306.20	104.83	103.78	0.97
			303.30	103.67		
			301.20	102.83		
		500	545.50	100.28	99.81	1.05
			546.80	100.54		
			537.10	98.60		
富马酸	8.70	25	34.91	104.84	101.05	3.56
			33.86	100.64		
			33.12	97.68		
		250	257.97	99.71	98.40	1.63
			255.87	98.87		
			250.23	96.61		
		500	508.20	99.90	98.91	0.99
			498.33	97.93		
			503.19	98.90		
琥珀酸	9.48	25	32.95	93.88	96.76	5.19
			32.94	93.84		
			35.12	102.56		
		250	263.90	101.77	103.72	1.72
			269.78	104.12		
			272.66	105.27		

		500	519.40	101.98	101.60	0.41
			515.22	101.15		
			517.85	101.67		
没食子酸	6.43	25	30.27	95.36	95.37	0.23
			30.22	95.16		
			30.33	95.60		
		250	261.62	102.08	102.05	0.56
			262.96	102.61		
			206.09	101.46		
		500	506.66	100.05	100.22	0.17
			508.42	100.40		
			507.47	100.21		

表 7 方法验证：四川台农芒果 (n=3)

组分	试样组分浓度 (mg/kg)	理论加标浓度 (mg/kg)	加标试样组分浓度 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
草酸	47.77	25	73.55	103.12	102.87	5.12
			72.14	97.48		
			74.77	108.00		
		250	305.55	103.11	103.14	0.34
			306.52	103.50		
			304.77	102.80		
		500	578.85	106.22	106.00	0.26
			576.16	105.68		
			578.22	106.09		
酒石酸	54.43	25	80.75	105.28	104.13	1.50
			80.62	104.76		
			80.02	102.36		
		250	307.51	101.23	100.10	1.55
			306.25	100.73		

			300.26	98.33		
		500	551.02	99.32	98.94	0.44
			549.631	99.04		
			546.79	98.47		
奎宁酸	49.61	25	72.14	90.12	93.23	3.74
			73.86	97.00		
			72.75	92.56		
		250	301.21	100.64	100.95	0.31
			301.96	100.94		
			302.75	101.26		
		500	549.81	100.04	100.63	0.55
			555.32	101.14		
			553.17	100.71		
苹果酸	77.75	25	104.77	108.08	106.91	2.27
			104.88	108.52		
			103.78	104.12		
		250	331.89	101.66	103.20	1.29
			337.80	104.02		
			337.52	103.91		
		500	577.52	99.95	100.79	1.20
			578.97	100.24		
			588.60	102.17		
a-酮戊二酸	6.07	25	29.96	95.56	96.36	1.13
			30.05	95.92		
			30.47	97.60		
		250	259.65	101.43	101.86	0.58
			260.14	101.63		
			262.40	102.53		
		500	509.33	100.65	101.09	0.56

			510.53	100.89		
			514.73	101.73		
乳酸	21.96	25	47.01	100.20	99.72	6.83
			48.53	106.28		
			45.13	92.68		
		250	270.10	99.26	99.19	0.53
			268.53	98.63		
			271.14	99.67		
		500	527.14	101.04	100.27	0.68
			250.62	99.73		
			522.11	100.03		
乙酸	10.61	25	35.81	100.80	101.61	0.74
			36.05	101.76		
			36.18	102.28		
		250	260.70	100.04	99.95	0.91
			262.65	100.82		
			258.10	99.00		
		500	517.35	101.35	101.01	0.55
			517.20	101.32		
			512.45	100.37		
柠檬酸	78.15	25	102.70	98.20	98.17	4.32
			101.63	93.92		
			103.75	102.40		
		250	327.05	99.56	99.51	0.20
			326.37	99.29		
			327.33	99.67		
		500	578.24	100.02	100.00	0.06
			577.82	99.93		
			578.41	100.05		

富马酸	1.75	25	27.55	103.20	107.21	3.25
			29.10	109.40		
			29.01	109.04		
		250	253.29	100.62	100.97	0.32
			254.91	101.26		
			254.35	101.04		
		500	502.37	100.12	100.28	0.16
			503.13	100.28		
			503.94	100.44		
琥珀酸	17.22	25	43.48	105.04	96.76	7.86
			41.01	95.16		
			39.74	90.08		
		250	267.49	100.11	99.83	0.25
			266.59	99.75		
			266.31	99.64		
		500	523.48	101.25	101.87	0.58
			529.34	102.42		
			526.95	101.95		
没食子酸	7.96	25	34.67	106.84	101.97	4.41
			32.45	97.96		
			33.24	101.12		
		250	259.97	100.80	101.18	1.02
			258.93	100.39		
			263.84	102.35		
		500	500.43	98.49	99.00	0.54
			505.76	99.56		
			502.74	98.96		

六、重大意见分歧的处理依据和结果；

本标准研制过程中无重大分歧意见。

七、实施标准的措施

目前，芒果果实中有机酸分析是农产品质量检测的重要环节，标准发布实施后，为确保团体标准《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》推广应用，以标准规范高效液相色谱法在芒果有机酸分析测定中的应用，广西壮族自治区农业科学院及相关检测机构将举办培训班或宣贯会，充分利用公众号、网站和刊物等媒介，发布宣传新闻稿，协同刊登印发团体标准《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》，制作宣传标牌、标语，积极营造良好的标准化氛围，提高生产主体和检测机构贯彻实施标准的积极性和自觉性。

八、其他应当说明的事项

无。

《芒果果实中有机酸分析方法 高效液相色谱法》编写组

2025年2月26日