

ICS 65.120

B46

团 体 标 准

T/NAIA 0002—2020

发酵饲料中乳酸含量的测定 高效液相色谱法

(征求意见稿)

2020-XX-XX 发布

2020-XX-XX 实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前 言

本标准的编写格式符合 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分 标准的结构和编写》规定编写。

本标准由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本标准由宁夏大学、宁夏饲料工程技术研究中心、宁夏兽药饲料监察所、宁夏饲料工作站、宁夏农林科学院、宁夏昊标检测服务研究院、宁夏化学分析测试协会起草。

本标准主要起草人：辛国省、刘辉、卜姣姣、燕翀、杨仪、丁园、高巧仙、王建林、武晓宏、谢荣国、张小飞、张艳、王京、佐婷婷。

本标准于 2020 年 XX 月 XX 日首次发布。

发酵饲料中乳酸含量的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了发酵饲料中乳酸含量高效液相色谱法。

本标准适用于发酵饲料中乳酸含量的测定。

本方法定量限：800mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过在本标准中的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(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

GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 14699.1 饲料 采样

3 原理

利用乳酸易溶于水的特点，乳酸加水超声提取后，稀释至适当的浓度，试液过滤膜进高效液相色谱仪经 C18 色谱柱分离，在 210nm 波长下紫外检测器(或性能相当的检测器)检测，外标法计算乳酸的含量。

4 试剂与材料

除另有说明外，所用试剂均为优级纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈(色谱纯)。

4.2 磷酸(色谱纯)。

4.3 0.1%磷酸溶液：准确吸取 1.0ml 磷酸(4.2)溶于水中，定容至 1 000 mL。

4.4 氢氧化钠。

4.5 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液，按 GB/T601 配制和标定。

4.6 酚酞。

4.7 0.1%酚酞指示剂溶液：1g 酚酞溶于 60ml95%乙醇中，用水稀释至 100ml。

5 仪器和设备

5.1 分析天平：感量 0.0001 g。

- 5.2 超声波清洗器。
- 5.3 微孔滤膜：孔径 0.45 μ m。
- 5.4 容量瓶：50mL、100 mL、1000 mL。
- 5.5 高效液相色谱仪（配有紫外检测器或二极管阵列检测器）

6 试样制备与保存

按GB/T 14699.1规定，取代表性的样品1Kg，四分法缩减取200g装入磨口瓶中备用。

7 测定步骤

7.1 样品溶液制备

称取试样 1g~5g(精确至 0.0001g)，置于 100 mL 容量瓶中，加 60mL 水，在 50℃水浴中超声提取 20 min，冷却至室温，用水定容至刻度，摇匀，过滤，取滤液稀释，使最后稀释液中乳酸的浓度均在工作曲线之内，取部分稀释液过 0.45 μ m 滤膜，滤液作为试样溶液。

7.2 高效液相色谱条件

色谱柱：C18 柱，长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μ m，或性能相当。

柱温：35℃。

流动相：乙腈+磷酸溶液(4.3)=2.5+97.5(体积比)。

流速：1.0 mL/min。

检测波长：210 nm。

进样量：20 μ L。

7.3 平行试验

对同一试样进行平行试验测定。

7.4 空白试验

随同试样进行空白试验。除不称取样品外，均按试样步骤进行。

7.5 乳酸标准储备液溶液的制备

称取乳酸约 3g 于 500ml 圆底烧瓶中，加 270mL 水，装上球形冷凝管，接通冷却水，加热回流 15h，冷却至室温。移取 20mL 溶液，加 40mL-60mL 水及 0.2mL1%酚酞指示剂，用 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液滴定至微红色 30s 不褪色，记录消耗 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数 (V_1)，置于 4℃冰箱保存，有效期为 3 个月。

乳酸标准储备液的浓度 C_s (μ g/mL)。按 (1) 计算

$$C_s = \frac{C \times (V_1 - V_0)}{V_2} \times 90.08 \times 1000 \dots \dots \dots (1)$$

式中：

C—氢氧化钠溶液的浓度，单位为 mol/L；

V_1 —滴定乳酸溶液所消耗氢氧化钠标准溶液的体积，单位为 mL；

V_0 —空白试验所消耗氢氧化钠标准溶液的体积，单位为 mL；

V_2 —吸取乳酸溶液的体积，单位为 mL；

90.08—乳酸的摩尔质量。

7.6 高效液相色谱仪测定

按仪器操作规程操作。分别取标准工作液（7.4）和试样溶液（7.1），做单点或多点校准，以色谱峰面积积分值定量。

以乳酸含量 (ug/mL) 为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

8 分析结果的计算

按式(2)计算试样中的乳酸含量 X(g/100g)。

$$X = \frac{C_s \times V \times n}{m \times 1000000} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中： C_s —由标准曲线查得乳酸的浓度，单位 (ug/mL)；

V —试样液总体积，单位 (mL)；

n —稀释倍数；

m —称取试样的质量，单位 (g)。

9 重复性

在重复性条件下，完成两个平行测定的结果的相对偏差不大于 5%。