



中华人民共和国国家标准

GB/T 23877—2009

饲料酸化剂中柠檬酸、富马酸和 乳酸的测定 高效液相色谱法

Determination of citric acid, fumaric acid and lactic acid in feed acidifier—
High performance liquid chromatography

2009-05-26 发布

2009-10-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A 为规范性附录,附录 B 为资料性附录。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准起草单位:上海市饲料质量监督检验站、上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究所。

本标准主要起草人:赵志辉、黄志英、顾赛红、杨海锋、林森、白冰、雷萍、风懋熙。

饲料酸化剂中柠檬酸、富马酸和 乳酸的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了测定饲料酸化剂中柠檬酸、富马酸和乳酸含量的高效液相色谱法。

本标准适用于饲料酸化剂中柠檬酸、富马酸和乳酸含量的测定。

本方法的定量限为：柠檬酸 800 mg/kg、富马酸 8.0 mg/kg、乳酸 800 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准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 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

3 原理

试样中柠檬酸、富马酸和乳酸加水超声提取后，稀释至适当的浓度，用高效液相色谱仪进行测定，外标法计算柠檬酸、富马酸和乳酸的含量。

4 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 二级规定的用水。

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 1.00 mL 磷酸（4.2），用符合 GB/T 6682 规定的一级用水溶解并定容至 1 000 mL。

4.4 柠檬酸标准品：纯度 $\geq 99.5\%$ 。

4.5 富马酸标准品：纯度 $\geq 99.5\%$ 。

4.6 柠檬酸标准储备液：准确称取柠檬酸标准品 0.502 5 g 于 50 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度。此溶液浓度为 10.0 mg/mL，4℃条件下储藏，保存期 3 个月。

4.7 富马酸标准储备液：准确称取 0.100 0 g 富马酸标准品于 100 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度。此溶液浓度为 1.0 mg/mL，4℃条件下储藏，保存期 3 个月。

4.8 乳酸标准储备液：制备和标定方法见附录 A。

4.9 混合标准储备液：取 10.0 mL 柠檬酸标准储备液（4.6），1.0 mL 富马酸标准储备液（4.7）和 10.0 mL 乳酸标准储备液（4.8）于 50 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，混匀。4℃条件下储藏，保存期 1 个月。

4.10 混合标准工作液：准确吸取 0.10 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.50 mL、5.00 mL、10.00 mL 混合标准储备液（4.9）于 10.0 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，混匀。此为混合标准工作液，现配现用。

5 仪器和设备

- 5.1 实验室常用仪器设备。
- 5.2 分析天平：感量为 0.000 1 g。
- 5.3 超声波清洗器。
- 5.4 微孔滤膜：孔径 0.45 μm。
- 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 试样的制备

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

7 分析步骤

7.1 试样溶液制备

称取试样 1 g~5 g（精确至 0.000 1 g），置于 100 mL 容量瓶中，加 60 mL 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，使最后稀释液中各种有机酸的浓度均落在 4.10 的工作曲线之内。取部分稀释液过 0.45 μm 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，粒度 5 μm（极性色谱柱）。
- 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 μL。

7.3 液相色谱测定

分别取混合标准工作液（4.10）和试样溶液（7.1），按 7.2 列出的条件进行液相色谱分析测定。以混合标准工作液作多点校准，并用色谱峰面积积分值定量。测定中应调整试样溶液的浓度，使柠檬酸、富马酸和乳酸的积分值分别落在标准曲线的相应范围内。

8 结果计算与表述

试样中柠檬酸、富马酸和乳酸的含量 X，以质量分数表示，按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times n}{m \times 1\,000\,000} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- c——由标准曲线得出的试样液中柠檬酸或富马酸或乳酸的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；
- V——试样液总体积，单位为毫升（mL）；
- n——稀释倍数；
- m——试样的质量，单位为克（g）。

测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留 3 位有效数字。

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%。

附录 A

(规范性附录)

乳酸标准储备溶液的制备和标定

A.1 试剂和材料

A.1.1 乳酸:纯度约为90%。

A.1.2 0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液:按 GB/T 601 配制和标定。

A.1.3 1%酚酞指示剂溶液:1 g 酚酞溶于 60 mL 95%乙醇中,用水稀释至 100 mL。

A.2 仪器和设备

A.2.1 电热套:500 mL。

A.2.2 圆底烧瓶:500 mL。

A.2.3 球形冷凝管:100 mL。

A.3 制备和标定

称取乳酸约 3.0 g 于 500 mL 圆底烧瓶中,加 270 mL 水,装上球形冷凝管,接通冷却水,加热回流 15 h,冷却至室温。移取 20 mL 溶液,加 40 mL~60 mL 水及 0.2 mL 1%酚酞指示剂,用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液滴定至微红色 30 s 不褪色,记录消耗 0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数 (V_1)。乳酸标准储备液的浓度 c_s ,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$),按式(A.1)计算:

$$c_s = \frac{c \times (V_1 - V_2)}{V_0} \times 90.08 \times 1\,000 \dots\dots\dots (\text{A.1})$$

式中:

 c ——氢氧化钠溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L); V_1 ——滴定乳酸溶液所消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL); V_2 ——空白试验时所消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL); V_0 ——乳酸溶液的体积,单位为毫升(mL);

90.08——乳酸的摩尔质量。

此标准储备液在 4℃下可保存 3 个月。

附 录 B
(资料性附录)

柠檬酸、富马酸和乳酸标准品的色谱图

柠檬酸、富马酸和乳酸标准品的色谱图见图 B.1。

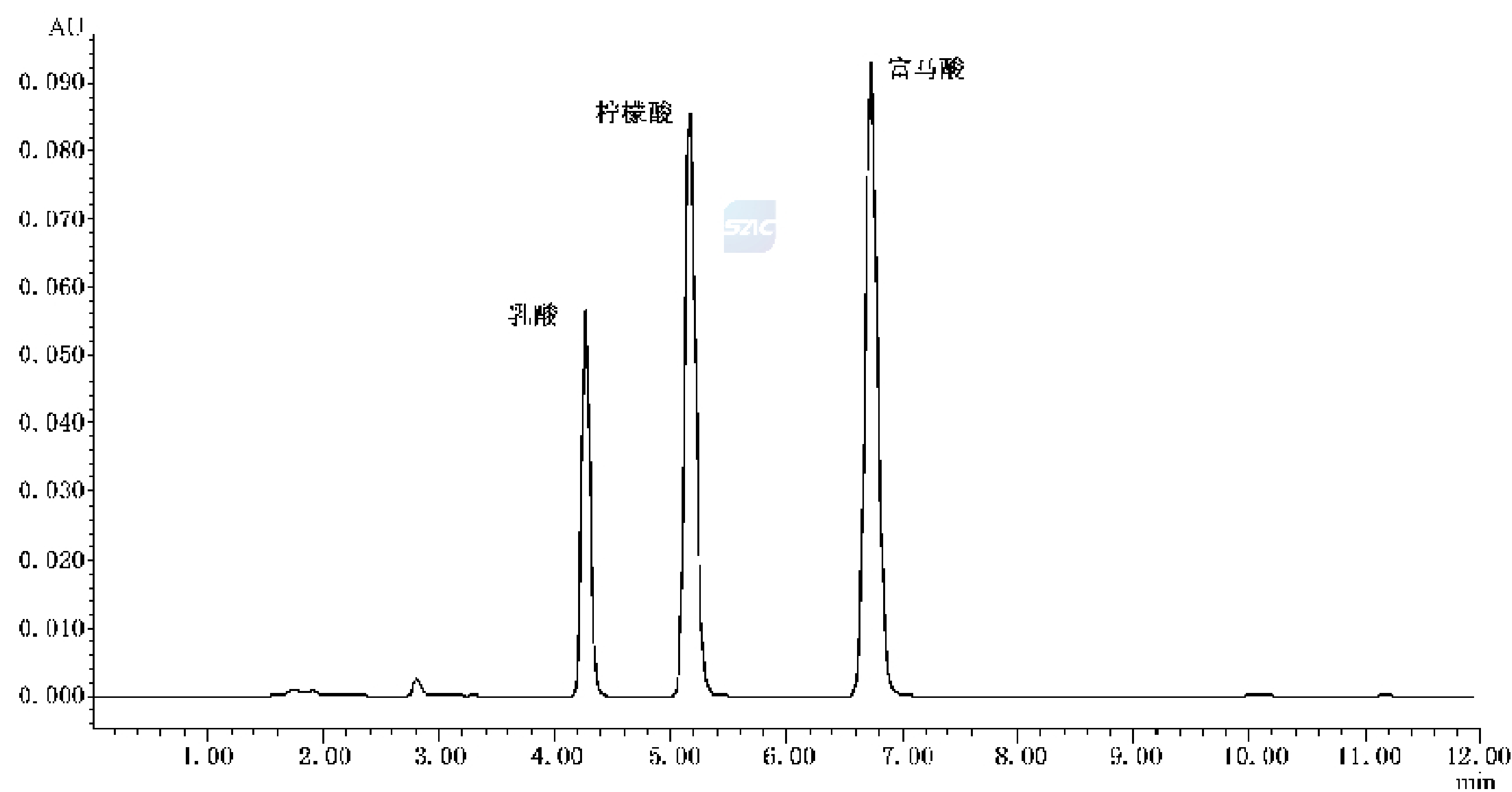


图 B.1 标准溶液色谱图
