

中华人民共和国农业行业标准

NY/T ××××—202×

饲料添加剂防霉剂中丙酸和丙酸盐的测定
高效液相色谱法

Determination of propionic acid and propionate in preservatives
as feed additive — High performance liquid chromatography

(公开征求意见稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

中华人民共和国农业农村部 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》的规定起草。

请注意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。

本文件由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）归口。

本文件起草单位：四川威尔检测技术股份有限公司、江西省兽药饲料监察所、重庆民泰新农业科技发展集团有限公司、通威股份有限公司。

本文件主要起草人：

饲料添加剂防霉剂中丙酸和丙酸盐的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了饲料添加剂防霉剂中丙酸和丙酸盐的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于饲料添加剂防霉剂中丙酸和丙酸盐（以丙酸计）的测定。

本文件丙酸和丙酸盐（以丙酸计）的检出限为0.1%，定量限为0.3%。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中的丙酸和丙酸盐用磷酸溶液提取，高效液相色谱仪测定，外标法定量。

5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 0.1%磷酸溶液：移取 1.0 mL 磷酸，加水稀释、定容至 1 000 mL，混匀，备用。

5.4 标准储备溶液（10 mg/mL）：准确称取约0.5 g（精确至0.1 mg）丙酸标准品（CAS号：79-09-4，纯度≥99.0%）于50 mL容量瓶中，用0.1%磷酸溶液（5.3）溶解，定容，混匀。于2℃~8℃保存，有效期3个月。

5.5 标准系列溶液：准确移取0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL标准储备溶液（5.4），分别置于100 mL容量瓶，用0.1%磷酸溶液（5.3）稀释、定容，混匀，配制成浓度分别为0.01 mg/mL、0.02 mg/mL、0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.5 mg/mL标准系列溶液。临用现配。

5.6 微孔滤膜：0.45 μm，水系。

6 仪器设备

- 6.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器（或二极管阵列检测器）。
- 6.2 分析天平：精度为 0.1 mg。
- 6.3 超声波清洗器。

7 样品

取代表性的样品200 g，装入容器中，密封，应尽快分析。

8 试验步骤

8.1 试样溶液制备

8.1.1 固体试样

平行做两份试验。称取0.5 g（精确至0.1 mg）试样，置于100 mL容量瓶中，立即加入80 mL 0.1%磷酸溶液（5.3），加塞，摇匀，超声提取10 min，取出，冷却至室温，用0.1%磷酸溶液（5.3）定容，混匀。准确移取10 mL提取液于100 mL容量瓶中，用0.1%磷酸溶液（5.3）稀释、定容，混匀，过0.45 μm滤膜，作为试样溶液，备用。

8.1.2 液体试样

平行做两份试验。称取0.5 g（精确至0.1 mg）试样，置于100 mL容量瓶中，立即用0.1%磷酸溶液（5.3）稀释、定容，混匀。准确移取10 mL提取液于100 mL容量瓶中，用0.1%磷酸溶液（5.3）稀释、定容，混匀，过0.45 μm滤膜，作为试样溶液，备用。

8.2 测定

8.2.1 高效液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈柱，柱长250 mm，内径4.6 mm，粒径5 μm，或性能相当者；
- b) 流动相：乙腈（5.2）+0.1%磷酸溶液（5.3）=5+95（V+V）；
- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 检测波长：210 nm；
- e) 进样量：20 μL；
- f) 柱温：30 °C。

8.2.2 标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下，分别取标准系列溶液（5.5）和试样溶液（8.1）上机测定。丙酸标准溶液的液相色谱图见附录A。

8.2.3 定性

以保留时间定性，试样溶液中丙酸色谱峰的保留时间应与浓度相当的标准系列溶液中丙酸色谱峰的保留时间一致，其相对偏差在±2.5%之内。

8.2.4 定量

以丙酸的浓度为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，其相关系数应不低于0.995。试样溶液中丙酸的浓度应在标准曲线的线性范围内。如超出范围，应将试样溶液用0.1%磷酸溶液（5.3）稀释（稀释倍数 n ）后，重新测定。单点校准定量时，试样溶液中待测物的浓度与标准溶液浓度相差不超过30%。

9 试验数据处理

试样中丙酸和丙酸盐（以丙酸计）的含量以质量分数 w 表示，数值以百分含量（%）表示。多点校准按公式（1）计算；单点校准按公式（2）计算：

$$w = \frac{\rho \times V \times V_2 \times n}{m \times V_1 \times 1000} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ρ ——由标准曲线计算得到的试样溶液中丙酸的质量浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

V ——试样提取液总体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——试样溶液体积，单位为毫升（mL）；

n ——超出线性范围后的稀释倍数；

V_1 ——移取提取液体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）。

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V \times V_2 \times n}{A_s \times m \times V_1 \times 1000} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

A ——试样溶液中丙酸色谱峰面积；

A_s ——标准溶液中丙酸的色谱峰面积；

ρ_s ——丙酸标准溶液的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

V ——试样提取液总体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——试样溶液体积，单位为毫升（mL）；

n ——超出线性范围后的稀释倍数；

V_1 ——移取提取液体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）。

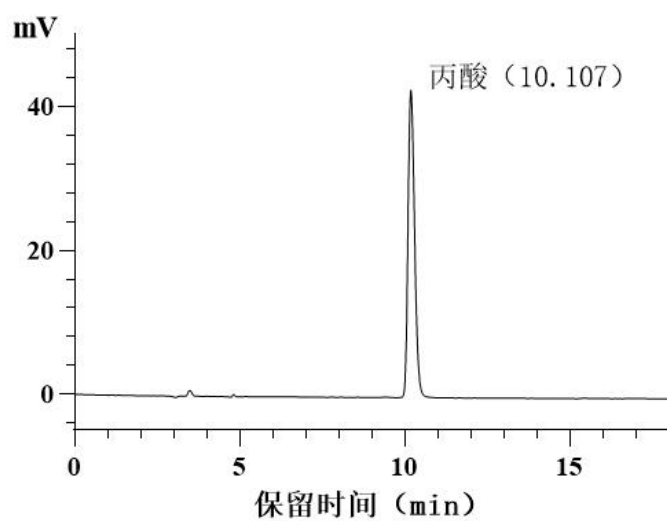
测定结果以平行测定的算术平均值表示，保留3位有效数字。

10 精密度

在重复性条件下，获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过其算术平均值的5%。

附录A
(资料性)
丙酸标准溶液液相色谱图

丙酸标准溶液液相色谱图见图 A.1。



图A.1 丙酸标准溶液 (0.1 mg/mL) 液相色谱图