ICS
点击此处添加中国标准文献分类号

中 华 人 民 共 和 国　　行 业 标 准

XX/T XXXXX—XXXX

食品中 L-乳酸的测定—酶电极法

Determination of L-lactate in food—Enzyme-electrode method

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

（工作组讨论稿）

（本稿完成日期：）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

发 布

前　　言

本标准按照GB/T1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：菱花集团有限公司、河南金丹乳酸科技股份有限公司、山东寿光巨能金玉米开发有限公司、武汉远大宏元股份有限公司、天津科技大学、山东省科学院生物研究所、山东百盛生物科技有限公司、中国生物发酵产业协会。

本标准主要起草人：xxx、

食品中L-乳酸的测定-酶电极法

1 范围

本标准规定了酶-电极法测定各类食品中L-乳酸的分析步骤。

本标准适用于各类食品中L-乳酸的测定，亦适用于食品中其他组分转化为L-乳酸的测定。

本标准的最低检出限量为10.0mg/L。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 方法提要

乳酸氧化酶在有氧条件下催化L-乳酸（乳酸水溶液状态）氧化，生成丙酮酸和过氧化氢，过氧化氢与过氧化氢型电极接触产生电流，该电流值与L-乳酸的浓度呈线性比例，在酶电极L-乳酸分析仪上直接显示L-乳酸含量。

$$L\text{-}C_3H_6O_3 + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{乳酸氧化酶}} CH_3COCOOH + H_2O_2$$

4 试剂和溶液

本试验方法中，所用试剂除特殊注明外均为分析纯；用水应符合GB/T 6682中三级(含三级）以上的水规格。

4.1 组合试剂盒

4.1.1 L-乳酸氧化酶酶膜圈

含有乳酸氧化酶0.1U（活力单位）；应在0℃~4℃左右保存，有效期9个月。

4.1.2 复合试剂

含磷酸二氢钾12%、磷酸氢二钾54.73%、乙二胺四乙酸二钠4.4%、氯化钠21.55%、苯甲酸钠7.31%、庆大霉素硫酸盐0.059%。常温保存，有效期24个月。

4.1.3 L-乳酸标准溶液

浓度500.0 mg/L。密封保存，有效期12个月。

4.2 缓冲溶液

将15g复合试剂（4.1.2）溶解在500mL蒸馏水中，摇匀。pH=7.2±0.1。

5 仪器和设备

实验室常用和下列仪器适用于本标准

5.1 研钵或粉碎机

5.2 组织捣碎机

5.3 分析筛

5.4 酶电极乳酸分析仪

直接读数式，测量范围0.0 mg/L ~500.0 mg/L（L-乳酸）；测量精度±10.0 mg/L（L-乳酸）。

5.5 微量进样器：

容量50μL，精度1μL。

6 试样的制备

6.1 固体试样

取有代表性的样品至少200g，用研钵、粉碎机或者组织捣碎机制成粉末，通过100目分析筛，充分混匀，置于密闭容器内。

6.2 液体试样

取有代表性的样品至少200mL，充分混匀，置于密闭的玻璃容器内。

6.3 固液两相试样

取有代表性的样品至少200g，用研钵、粉碎机或者组织捣碎机制成粉末，充分混匀，置于密闭容器内。

6.4 糊状试样

取有代表性的样品至少200mL，充分混匀，置于密闭的玻璃容器内。

7 试液的制备

7.1 固体试样和固液体试样

称取试样1g ~10g于100mL烧杯内，精确至0.0001g，用蒸馏水移入100mL容量瓶中，稀释至刻度，摇匀，放置30min（摇动2~3次），用快速滤纸或脱脂棉过滤。弃去最初滤液，收集1mL ~2mL滤液于带盖小试管中。

注：定容后L-乳酸含量为10 mg/L ~500 mg/L，如果试液中L-乳酸含量大于500 mg/L时，应适当增加定容体积。

7.2 液体试样和糊状试样

吸取试样1mL~10mL于100mL烧杯内，精确至0.0001mL，用蒸馏水移入100mL容量瓶中，稀释至刻度，摇匀。然后吸取1~2mL稀释液于带盖小试管中。

注：定容后L-乳酸含量为10 mg/L ~500 mg/L，如果试液中L-乳酸含量大于500 mg/L时，应适当增加定容体积。

8 分析步骤

8.1 校正仪器

按下仪器“排空换膜键”（菜单→排空换膜→排空）将反应池内液体排空，取出电极，将其表面清理干净，吸取缓冲溶液（3.2）滴在电极表面。用小镊子取一片酶膜圈，安装在电极表面，使酶膜圈中心和电极中心的白金完全贴紧，形成无气泡的薄层液体，然后将电极安装在反应池内，选择对应的电极，按一下“输入”键。

仪器运行后，缓冲溶液即自动加入反应池，并自行冲洗。当仪器出现“定标，请进标样”指令后，用微量进样器准确吸取25μL标准准液（4.1.3），用滤纸擦净针尖外部，将标准溶液注入进样口内。20-40s后仪器自动显示标准溶液的指示值，然后仪器自动完成冲洗过程。当仪器再一次出现“定标，请进标样”指令后，即可注入25μL标准溶液（4.1.3），直至仪器显示“定标，请进样品”指令，此时开始测定样品。当连续两次标准溶液显示值的相对误差小于2.0%时，仪器显示“定标通过”，即完成校正步骤。

8.2 测定样品

用试液（7）冲洗微量进样器，至少两次。准确吸取25μL试液（7），用滤液擦干针尖外部，注入进样口。仪器显示测定结束后读取显示值。

8.3 分析结果的表述

样品中L-乳酸的含量以mg/L表示，按式（1）计算：

$$X = R \times n \quad \text{.....} \quad (1)$$

式中：

X——样品中L-乳酸的含量，mg/L；

R——仪器测定值，mg/L；

n——试液的稀释倍数。

8.4 允许差

同一样品的两次测定值之差：

样品中L-乳酸含量小于1.0%时，不得超过两次测定平均值的5.0%；

样品中L-乳酸含量大于或等于1.0%时，不得超过两次测定平均值的2.0%。

附　录　A
（规范性附录）
L-乳酸氧化酶酶膜圈性能判定方法

A.1　酶膜活性的判定

打开仪器，按下“定标”键，注入25μL标准溶液（3.1.3），仪器则显示酶膜活性相对值。如相对值大于20.0，则表示酶膜活性符合要求，相对值小于20.0时，应更换新酶膜。

A.2　酶膜线性的判定

A.2.1 试剂和溶液

A.2.1.1 乳酸锂：0.55g （色谱纯）

A.2.1.2　250.0 mg/L L-乳酸溶液：用100mL烧杯准确称取0.55g乳酸锂，加入少量蒸馏水使之溶解，转移至100mL容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀。

A.2.2 判定步骤

校正仪器操作步骤完成后，用微量进样器注入25μL 250.0 mg/L L-乳酸溶液，如显示值小于13.0，表示酶膜线性正常；大于等于13.0时，应打开仪器线性校正功能，进行线性校正。