

中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXX-202X

饲料添加剂香味剂中百里香酚、肉桂醛、
香芹酚、丁香酚的测定
气相色谱法

Determination of thymol, cinnamaldehyde, carvacrol, eugenol in feed
additives—Gas chromatography

(公开征求意见稿)

202X-XX-XX发布

202X-XX-XX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：广州汇标检测技术中心、建明（中国）科技有限公司、广东海大集团股份有限公司。

本文件主要起草人：。

饲料添加剂香味剂中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的测定

气相色谱法

1 范围

本文件描述了饲料添加剂香味剂中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的气相色谱测定方法。

本文件适用于混合型饲料添加剂香味剂中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的测定。

本文件中百里香酚、香芹酚的检出限为0.0005%，定量限为0.0015%；肉桂醛、丁香酚的检出限为0.001%，定量限为0.003%。

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 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

香味剂 flavor

以一种香味物质添加增味物质或辅料，或两种以上（含两种）香味物质，添加或不添加增味物质或辅料，经调配、混合加工而成的用以赋予、改善或增强饲料的香味的均匀混合物。

[来源：GB/T 21543—2021]

4 原理

试样中的百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚用无水乙醇提取，气相色谱仪测定，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 无水乙醇。

5.2 无水乙醇：色谱纯。

5.3 百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚标准储备溶液（10 mg/mL）：分别准确称取百里香酚对照品（CAS 号：89-83-8，纯度≥99%）、肉桂醛对照品（CAS 号：104-55-2，纯度≥98%）、香芹酚对照品（CAS 号：499-75-2，纯度≥99%）、丁香酚对照品（CAS 号：97-53-0，纯度≥99%）100 mg（精确至0.1 mg），分别置于10 mL棕色容量瓶中，用无水乙醇（5.2）溶解定容，混匀。于-18℃以下避光保存，百里香酚、香芹酚、丁香酚标准储备溶液有效期3个月，肉桂醛标准储备溶液有效期1个月。

5.4 混合标准中间溶液（1 000 $\mu\text{g/mL}$ ）：分别准确移取百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚混合标准储备溶液（5.3）适量于 10 mL 棕色容量瓶中，用无水乙醇（5.2）稀释、定容，摇匀。于 2 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 保存，有效期 1 周。

5.5 混合标准系列溶液：准确移取适量混合标准中间溶液（5.4），用无水乙醇（5.2）稀释、定容，配制成浓度分别为 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 、1.00 $\mu\text{g/mL}$ 、5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 、500.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准系列溶液。临用现配。

5.6 微孔滤膜：0.45 μm ，有机系。

6 仪器设备

6.1 气相色谱仪：配氢火焰检测器（FID）。

6.2 分析天平：精度为 0.1 mg。

6.3 涡旋混合器。

6.4 离心机：转速不低于 4 000 r/min。

6.5 超声波清洗器。

7 样品

按 GB/T 20195 制备样品，至少 200 g，充分混匀，立即装入密闭容器内，避光保存，备用。

8 试验步骤

8.1 提取

平行做两份试验。准确称取 0.2 g~1 g 试样，精确至 0.1 mg，置于 50 mL 棕色容量瓶，加入无水乙醇（5.1）30 mL，涡旋 1 min 后，超声提取 20 min，取出，冷却至室温后用无水乙醇（5.1）定容，混匀，4000 r/min 离心 5 min，过微孔滤膜，备用。

8.2 气相色谱参考条件

气相色谱参考条件如下：

a) 色谱柱：毛细管柱，固定相为硝基对苯二甲酸改性的聚乙二醇（PEG），长 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm ，或性能相当者；

b) 检测器温度：260 $^{\circ}\text{C}$ ；

c) 进样口温度：240 $^{\circ}\text{C}$ ；

d) 柱温：初始温度 80 $^{\circ}\text{C}$ ，以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 150 $^{\circ}\text{C}$ ，再以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 190 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 1 min，以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 220 $^{\circ}\text{C}$ ；

e) 进样量：1 μL （不分流进样）；

f) 检测器：氢火焰离子化检测器。

g) 载气：氮气；

h) 载气流速：1.0 mL/min；

i) 空气流量：350 mL/min；

j) 氢气流速：35 mL/min；

k) 尾吹气流量：20 mL/min。

8.3 测定

8.3.1 混合标准系列溶液和试样溶液测定

按照8.2给出的色谱参考条件，分别取混合标准系列溶液（5.5）和试样溶液（8.1）上机测定。混合标准溶液的气相色谱图参见附录A。

8.3.2 定性

以保留时间定性，试样溶液中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的保留时间应与标准系列溶液（浓度相当）中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的保留时间一致，其相对偏差在±1%之内。

8.3.3 定量

分别以百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的浓度为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，对样品进行定量。试样溶液中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的浓度应在标准曲线的线性范围内。如超出范围，应将试样溶液用无水乙醇（5.2）稀释后，重新测定。

9 试验数据处理

试样中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的含量 w_i 以质量分数表示，单位为百分含量（%），按公式（1）计算：

$$w_i = \frac{\rho_i \times V}{m \times 1000 \times 1000} \times f \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

式中：

ρ_i ——由标准曲线得出的试样溶液中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——提取溶液定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

f ——超出线性范围时，试样溶液的再稀释倍数。

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

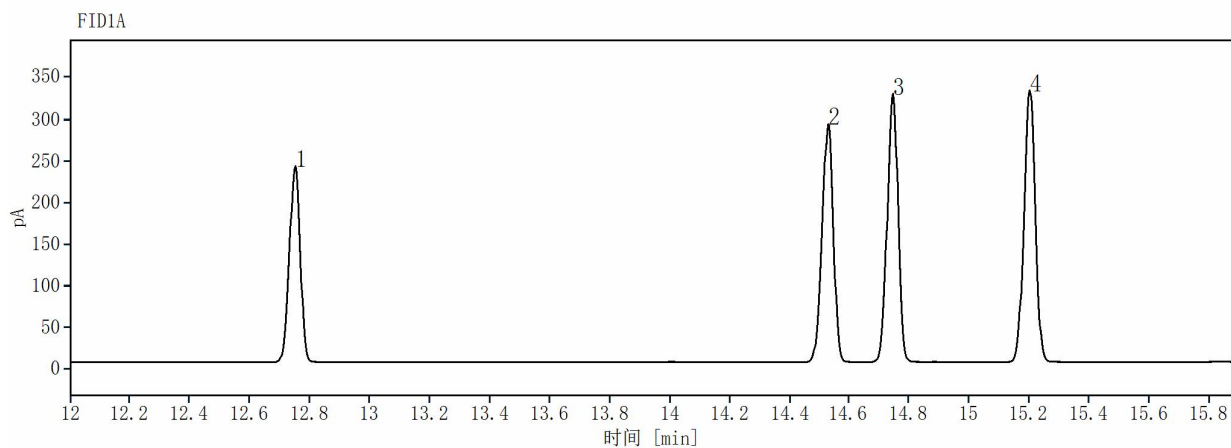
在重复性条件下，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的10%。

附录 A

(资料性)

混合标准溶液中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚标准溶液的气相色谱图

混合标准溶液中百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚标准溶液的气相色谱图见图 A.1。



说明:

1——肉桂醛;

2——丁香酚;

3——百里香酚;

4——香芹酚。

图 A.1 百里香酚、肉桂醛、香芹酚、丁香酚标准溶液 (50 $\mu\text{g/mL}$) 气相色谱图