

饲料中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、 乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、 乙基麦芽酚、大茴香脑的含量测定 气相色谱法

Detection of vanillin, ethyl vanillin, cinnamaldehyde, peach aldehyde,
isoamyl acetate, gamma-nonanolactone, methyl cinnamate, ethylmaltol
and anethole in feedstuffs by gas chromatography

2018 - 10 - 30 发布

2018 - 11 - 30 实施

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 和 GB/T 20001.4-2015 给出的规则起草。

本标准由辽宁省畜牧兽医局提出并归口。

本标准起草单位：辽宁省兽药饲料畜产品质量安全检测中心。

本标准主要起草人：郭国贤、张明、张秀芹、王丽娜、刘雪红、张雪娇、苗翠、兰雨濛、侯广正。

地方标准信息服务平台

饲料中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑的含量测定 气相色谱法

1 范围

本标准规定了配合饲料、复合预混合饲料、浓缩饲料、精料补充料中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑的气相色谱测定方法。

本标准适用于配合饲料、复合预混合饲料、浓缩饲料、精料补充料中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑的含量测定。

本方法的检出限为20 mg/kg，定量限为50 mg/kg。

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，仅所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）适用于本标准。

GB/T 14699.1 (ISO 6497 IDT) 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

试样中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑用无水乙醇超声提取，提取液过滤膜后以氮气作为载气，使用气相色谱氢火焰检测器测定，外标定量法。

4 试剂或材料

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂。

4.1 化学试剂：无水乙醇。

4.2 标准品：香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑纯度均 $\geq 98.5\%$ 。

4.3 混合标准贮备溶液：分别称取香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑标准品 100 mg（精确至 0.1mg），置于同一棕色 10 mL 容量瓶中，用无水乙醇（4.1）溶解并定容，配成浓度为 10 mg/mL 的标准贮备溶液。2~8℃密封保存，有效期为 3 个月。

4.4 混合标准中间溶液：准确移取香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑混合标准贮备溶液（4.3）1 mL 置于 10 mL 棕色容量瓶中，用无水乙醇（4.1）定容至刻度。该溶液的浓度为 1mg/mL。2℃~8℃密封保存，有效期为 1 个月。

4.5 混合标准工作溶液：准确移取香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑混合标准中间溶液(4.4)适量，用无水乙醇(4.1)稀释成浓度分别为5、10、20、50、100、200、500 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液。现用现配。

5 仪器设备

5.1 分析天平：感量为0.1 mg；

5.2 气相色谱仪：配氢火焰检测器(FID)和程序升温的柱温箱；

5.3 微孔滤膜：0.45 μm ，有机相。

6 试样制备

制样过程中应防止样品受到污染或含量发生变化。

按GB/T 14699.1的规定，取饲料样品500 g，按GB/T 20195规定制备试样，粉碎过0.45 mm孔径筛，充分混匀，装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

称取试样约1 g（精确至0.1 mg），置于10 mL棕色容量瓶中，加5 mL无水乙醇(4.1)，超声20min，降至室温后，用无水乙醇(4.1)定容至刻度。混匀后静置。取上清溶液，溶液过0.45 μm 的微孔滤膜，供上机测定。

同时做试剂空白试验。

7.2 测定

7.2.1 气相色谱参考条件

色谱柱：DB-5毛细管柱，长60 m，内径0.25 mm，膜厚0.25 μm ，或性能类似的色谱柱；

载气：高纯氮气，2.0 mL/min；

分流比：10:1；

进样口温度：270 $^{\circ}\text{C}$ ；

检测器：氢火焰检测器；

检测器温度：290 $^{\circ}\text{C}$ ；

柱温箱温度：起始温度90 $^{\circ}\text{C}$ ，保持2min，以15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至200 $^{\circ}\text{C}$ ，保持8min；

进样量：1.00 μL 。

7.2.2 测定

在仪器最佳工作条件下，取混合标准工作溶液(4.5，从低浓度到高浓度)和试样溶液分别上机测定，以混合标准工作液中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑峰面积为纵坐标，浓度为横坐标绘制标准工作曲线，对样品进行定量。试样溶液中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑的响应值应在标准工作曲线测定的线性范围内。超出线性范围的则用无水乙醇(4.1)适当稀释后再

进样分析。在上述色谱条件下，香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑标准溶液色谱图见附录A。

8 试验数据处理

试样中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑的含量以质量分数 X_i 计，单位为毫克每千克(mg/kg)，按式(1)计算：

$$X_i = \frac{C \times V}{m} \times n = \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C ——由标准曲线计算所得的试样中香兰素、乙基香兰素、肉桂醛、桃醛、乙酸异戊酯、 γ -壬内酯、肉桂酸甲酯、乙基麦芽酚、大茴香脑的浓度，单位为微克每毫升 ($\mu\text{g/mL}$)；

m——试样的质量，单位为克 (g)；

n——稀释倍数；

V——样品定容体积，单位为毫升 (mL)。

平行测定结果用算术平均值表示，结果保留3位有效数字。

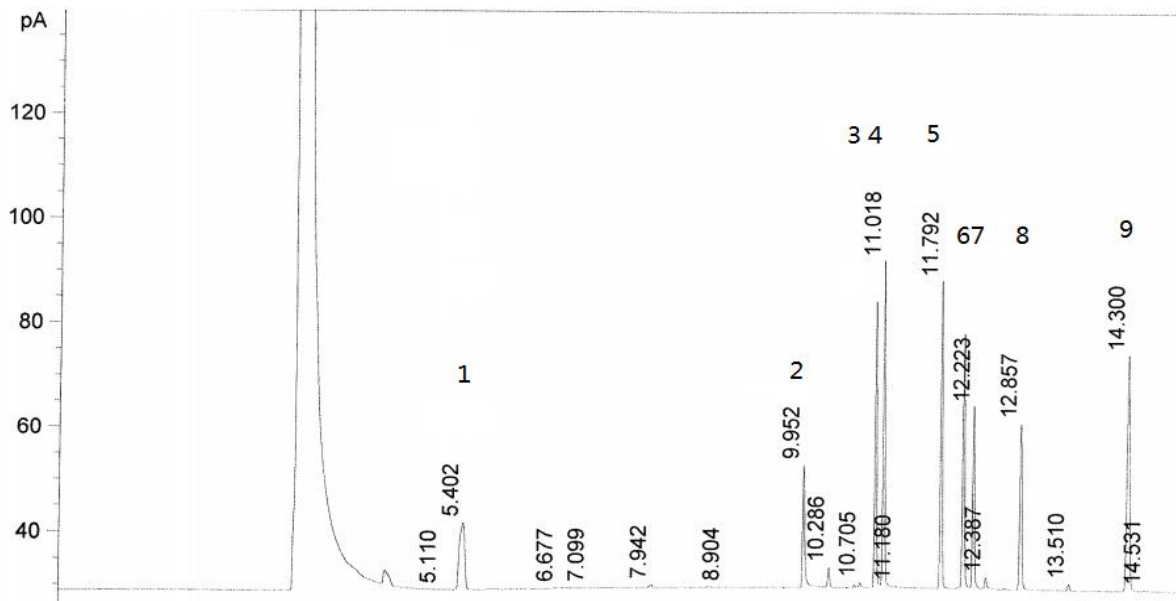
9 精密度

在同一实验室，由同一操作人员完成的两个平行测定结果，相对偏差不大于20%。

地方标准信息服务平台

附录 A
(资料性附录)
9 种香味剂标准溶液的色谱图

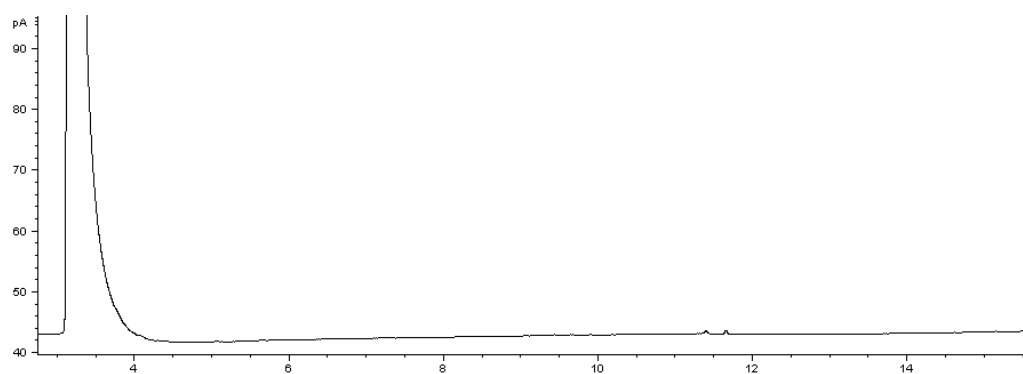
图A.1给出了9香味剂标准溶液的色谱图



- 1—乙酸异戊酯
- 2—乙基麦芽酚
- 3—肉桂醛
- 4—大茴香脑
- 5— γ -壬内酯
- 6—肉桂酸甲酯
- 7—香兰素
- 8—乙基香兰素
- 9—桃醛

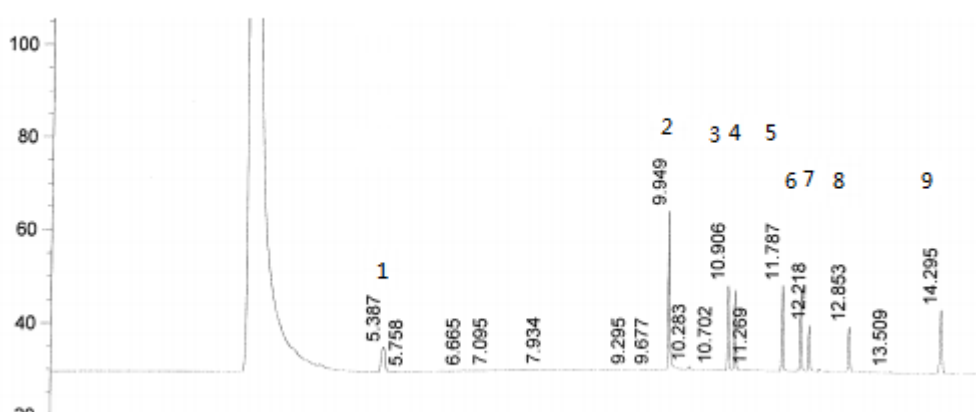
图 A.1 9香味剂标准溶液的色谱图 (浓度为50 $\mu\text{g/mL}$)
空白饲料色谱图

图 A.2给出了9种香味剂空白的色谱图



图A.2空白饲料色谱图

图 A.3给出了添加混合标样的样品色谱图



- 1—乙酸异戊酯
- 2—乙基麦芽酚
- 3—肉桂醛
- 4—大茴香脑
- 5— γ -壬内酯
- 6—肉桂酸甲酯
- 7—香兰素
- 8—乙基香兰素
- 9—桃醛

图 A.3 添加混合标样 (20 $\mu\text{g/mL}$) 的样品色谱图