

气相色谱法测定饲料中香芹酚和百里香酚含量

GC-310

摘要：本文参照行业标准 NY/T 3137-2017《饲料中香芹酚和百里香酚的测定 气相色谱法》，利用岛津 GC-2030 气相色谱仪，建立了饲料中香芹酚和百里香酚两种添加剂含量的检测方法。样品经提取、净化及过滤后进样分析，在 1.0-400.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，香芹酚和百里香酚的线性关系良好，相关系数均大于 0.999；重复性实验中，香芹酚和百里香酚峰面积的相对标准偏差分别为 0.60% 和 0.34%，重复性良好；香芹酚和百里香酚的加标回收率在 86.26~97.04% 之间，相对标准偏差在 0.45~0.73% 之间，方法准确性良好。该方法可以作为饲料中香芹酚和百里香酚检测的参考。

关键词：气相色谱法 饲料 香芹酚 百里香酚

技术特点：

- ❖ 前处理简单、快速，可操作性强。
- ❖ 各项指标符合标准《饲料中香芹酚和百里香酚的测定气相色谱法》检测要求，方法稳定性良好。

目前食用香料被广泛应用于社会各个方面，且种类繁多，欧盟允许使用的食用香料物质约 2800 多种。在农业部《饲料添加剂品种目录（2008）》（中华人民共和国农业部公告第 1126 号）规定了作为食品用的香料允许在养殖动物中使用。香芹酚和百里香酚作为目前应用最为广泛的重要香料之一，被广泛应用于饲料添加。随着香芹酚和百里香酚的生产技术提高以及其在饲料工业中所具有的优势，作为饲料调味剂香芹酚和百里香酚在饲料生产中的应用日益广泛。国内

外对于香芹酚和百里香酚的研究主要集中在对各种细菌、病毒以及螨类等微生物的抑制研究，而关于饲料以及饲料添加剂中的化学分析报道比较缺乏。

本文参照行业标准 NY/T 3137-2017《饲料中香芹酚和百里香酚的测定气相色谱法》，采用岛津 GC-2030 气相色谱仪，建立了饲料中香芹酚和百里香酚的检测方法，以分散固相萃取的方式净化，方法简单、快速，可靠，可用于饲料中香芹酚和百里香酚两种添加剂含量的检测。

实验部分

1.1 仪器

气相色谱仪：岛津 GC-2030

1.2 分析条件

色谱柱：	SK-5, 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm
柱温程序：	80°C(1 min)_10°C/min_120°C_5°C/min_145°C_35°C/min_250°C(2 min)
进样口温度：	250°C
检测器：	FID
载气：	氮气
检测器温度：	300°C
控制模式：	恒流, 1 mL/min
空气流量：	200 mL/min
进样方式：	不分流进样
氢气流量：	32 mL/min
进样量：	1 μL
尾吹气流量：	24 mL/min

■ 样品前处理

样品前处理步骤见图 1 所示

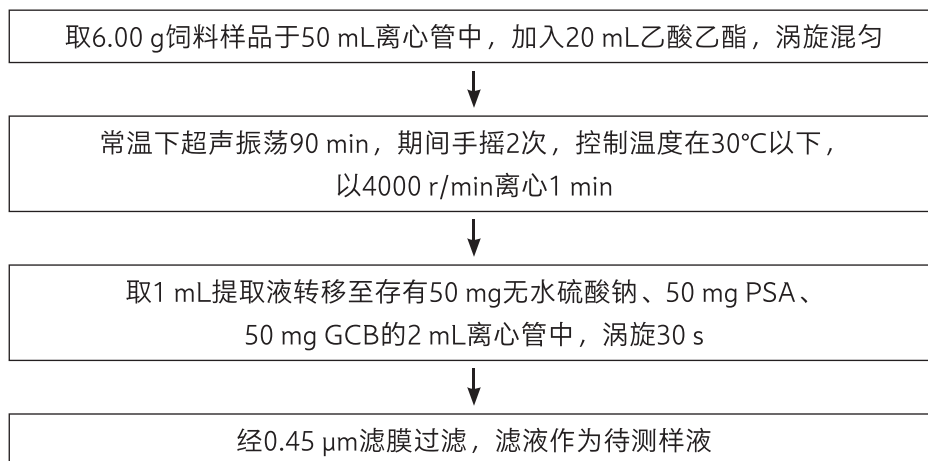


图 1 样品前处理流程图

■ 结果与讨论

3.1 标准品色谱图

香芹酚和百里香酚标准品色谱图和化合物信息分别见图 2 和表 1。

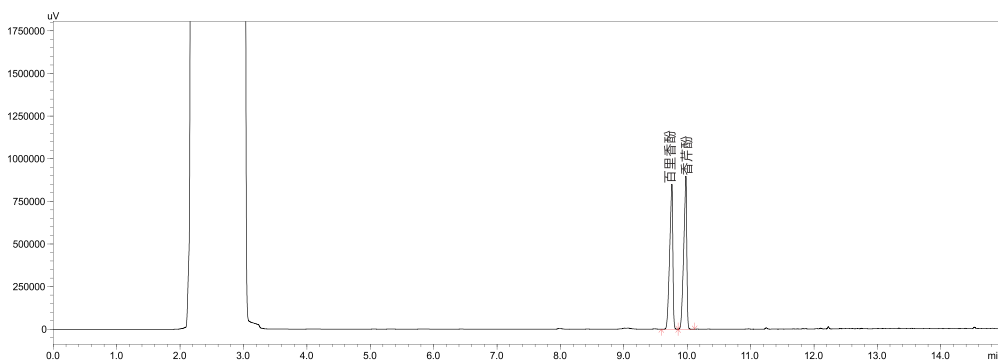


图 2 香芹酚和百里香酚标准品溶液色谱图 (200 μg/mL)

表 1 化合物信息表

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)
1	百里香酚	Thymol	89-83-8	9.759
2	香芹酚	Carvacrol	499-75-2	9.979

3.2 标准曲线及检出限

分别准确吸取适量浓度为 1000.0 μg/mL 香芹酚和百里香酚混合标准中间溶液于 10.0 mL 容量瓶中，用乙酸乙酯定容至刻度，混匀，配制成浓度为 1.0、10、50、100、200 和 400 μg/mL 的标准系列溶液，上机测试后，分别以香芹酚和百里香酚浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，以外标法建立标准曲线，标准曲线见图 3。以浓度为 1.0 μg/mL 标准品溶液数据计算得到检出限 (S/N=3)，具体结果见表 2。

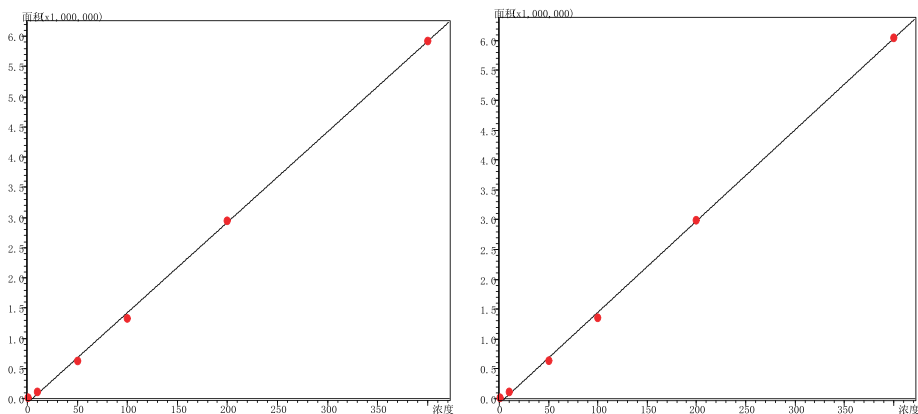


图 3 目标组分标准曲线

表 2 标准曲线参数

No.	化合物名称	线性方程	相关系数 R	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	百里香酚	$Y=14971.8X-74125.4$	0.9996	0.13
2	香芹酚	$Y=15280.0X-80290.8$	0.9996	0.13

3.3 重复性考察

取浓度为 $10 \mu\text{g/mL}$ 的混合标准品溶液，连续进样分析 6 次，计算重复性，结果见表 3。

表 3 重复性结果 (n=6)

No.	化合物名称	峰面积						RSD (%)
		1	2	3	4	5	6	
1	百里香酚	81294	80723	80021	80260	80223	80125	0.60
2	香芹酚	78824	78711	78105	78350	78336	78329	0.34

3.4 回收率考察

取空白样品，分别添加一定浓度的标准品溶液，按上述前处理方法提取定容，浓度分别为 $10 \mu\text{g/mL}$ 、 $200 \mu\text{g/mL}$ 和 $400 \mu\text{g/mL}$ ，制备三个水平的加标样品，每个水平重复 3 次，进行加标回收率实验。结果见表 4、表 5 所示。

表 4 百里香酚回收率实验结果 (n=3)

No.	加标浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	回收率 1 (%)	回收率 2 (%)	回收率 3 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	10	96.80	95.80	96.60	97.04	0.55
2	200	86.60	87.37	86.89	86.95	0.45
3	400	96.16	95.30	95.46	95.64	0.48

表5 香芹酚回收率实验结果 (n=3)

No.	加标浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	回收率 1 (%)	回收率 2 (%)	回收率 3 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	10	89.8	88.50	89.20	89.17	0.73
2	200	86.26	87.04	86.57	86.62	0.45
3	400	94.66	93.83	93.98	94.16	0.47

3.5 样品测试

取某市售配合饲料样品，按上述前处理方式进行操作并上机分析，该样品中未检出香芹酚和百里香酚，样品色谱图见图 4 所示。

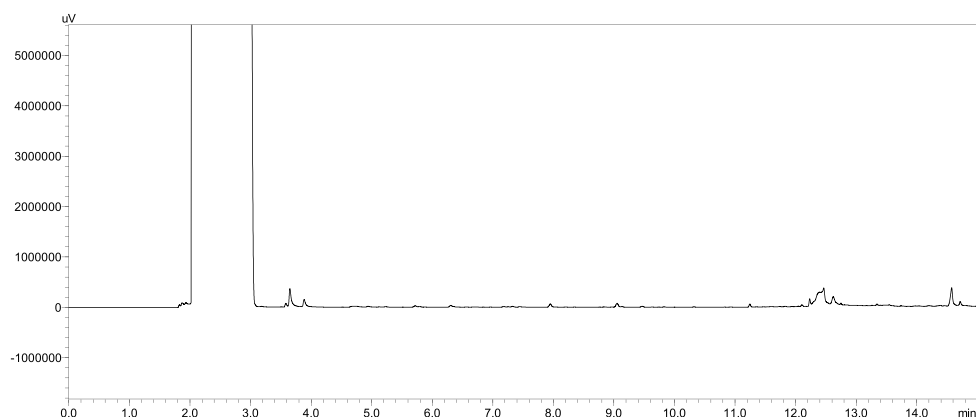


图4 某市售配合饲料样品色谱图

■ 结论

参考农业行业标准 NY/T 3137-2017《饲料中香芹酚和百里香酚的测定 气相色谱法》使用岛津 GC-2030 气相色谱仪，建立了饲料中香芹酚和百里香酚两种添加剂含量的检测方法。在 1.0~400.0 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内，香芹酚和百里香酚线性相关系数 R 分别为 0.9996、0.9996，线性关系良好，取浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品溶液进行 6 次重复性考察，香芹酚和百里香酚峰面积 %RSD 分别为 0.60%、0.34%，重复性良好；考察 10、200 和 400 $\mu\text{g/mL}$ 三个水平的样品加标回收率，回收率结果在 86.26~96.8%，满足方法学要求，该方法适用于饲料中香芹酚和百里香酚的含量测定。

岛津应用云

