



# 中华人民共和国国家标准

GB XXXX-XXXX

## 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会  
国家市场监督管理总局 发布

## 前 言

本标准代替GB 5413.20-2013《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定》。

本标准与GB 5413.20-2013相比，主要变化如下：

- 删除第二法雷氏盐分光光度法，增加了离子色谱法作为第二法；
- 增加了液相色谱-串联质谱法作为第三法。

食品安全国家标准 公开征求意见稿  
已批准 2024年12月20日 实施 202402

# 食品安全国家标准

## 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定

### 1 范围

本标准规定了婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定方法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定，第一法酶比色法，第二法离子色谱法，第三法液相色谱-串联质谱法。

### 第一法 酶比色法

### 2 原理

试样中的胆碱经酸水解后变成游离态的胆碱，再经酶催化后与显色剂反应生成有色物质，其颜色的深浅在一定浓度范围内与胆碱含量成正比。

### 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682 规定的三级水。

#### 3.1 试剂

- 3.1.1 三羟甲基氨基甲烷[(CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>]。
- 3.1.2 苯酚 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH)。
- 3.1.3 浓盐酸 (HCl)。
- 3.1.4 氢氧化钠 (NaOH)。
- 3.1.5 胆碱氧化酶：≥10 units/mg，置于-20℃保存。
- 3.1.6 过氧化物酶：≥250 units/mg，置于 2℃~8℃保存。
- 3.1.7 4-氨基安替比林 (C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O)。
- 3.1.8 磷脂酶 D：≥60 units/mg，置于-20℃保存。

#### 3.2 试剂配制

- 3.2.1 盐酸溶液 (1 mol/L)：量取85 mL浓盐酸注入约 900 mL水中，再定容至 1 000 mL。
- 3.2.2 盐酸溶液 (3 mol/L)：量取255 mL浓盐酸注入约 600 mL水中，再定容至 1 000 mL。
- 3.2.3 三羟甲基氨基甲烷缓冲溶液 (Tris) (0.05 mol/L)：pH=8.0±0.2。准确称取 6.057 g 三羟甲基氨基甲烷溶于 500 mL水中，用盐酸溶液 (1 mol/L)调 pH至 8.0±0.2，再用水定容至 1 000 mL。此溶液在 4℃冰箱中可保存一个月。
- 3.2.4 用于酶反应的显色剂：取100~120活力单位的胆碱氧化酶、250~280活力单位的过氧化物酶、75个~100个活力单位的磷脂酶D、15 mg 4-氨基安替比林和50 mg苯酚置于100 mL的容量瓶中，用0.05 mol/L Tris 缓冲溶液溶解并定容至刻度。临用现配。
- 3.2.5 氢氧化钠溶液 (500 g/L)：称取500 g氢氧化钠，溶于水并定容至1 000 mL。

#### 3.3 标准品

酒石酸氢胆碱标准品 ( $C_9H_{19}NO_7$ )，CAS 号：87-67-2，纯度 $\geq 99\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 胆碱（以胆碱氢氧化物计，下同）标准储备溶液 (2 500 mg/L)：准确称取在  $102\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$  烘至恒重的酒石酸氢胆碱 0.523 g (精确至 0.1mg)，用水溶解并转移至 100 mL 容量瓶中定容至刻度，混匀。4  $^\circ\text{C}$  避光保存，保存期三个月。

3.4.2 胆碱标准工作溶液 (250 mg/L)：吸取 10.0 mL 胆碱标准储备溶液于 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，4 $^\circ\text{C}$  避光保存，保存期一个月。

### 3.5 材料

3.5.1 0.45  $\mu\text{m}$  水性滤膜针头滤器。

3.5.2 注射器：5 mL 或相当者。

## 4 仪器和设备

4.1 天平：感量为 0.1 mg 和 0.01 g。

4.2 恒温水浴装置：温度可控制在  $70\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$  和  $37\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 。

4.3 pH 计：精度 0.01。

4.4 分光光度计。

## 5 分析步骤

### 5.1 样品前处理

#### 5.1.1 液态试样

称取 20 g (精确至 0.01 g) 混合均匀的试样，置于 100 mL 锥形瓶中，加入 10 mL 盐酸溶液 (3 mol/L)。

#### 5.1.2 半固态和固态试样

称取 5 g (精确至 0.01 g) 混合均匀的试样，置于 100 mL 锥形瓶中，加入 30 mL 盐酸溶液 (1 mol/L)，加塞混匀。

#### 5.1.3 水解

将装有试样的容器放在  $70\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$  水浴中，水解 3 h (每隔 30 min 振摇一次)，冷却。用氢氧化钠溶液 (500 g/L) 调 pH 至 3.5~4.0，转入 50 mL 容量瓶中，用水定容至刻度。

#### 5.1.4 过滤

用滤纸过滤水解液，滤液应是澄清的，否则，用 0.45  $\mu\text{m}$  水性滤膜针头滤器再次过滤。滤液放在 4  $^\circ\text{C}$  的冰箱中待用。

### 5.2 测定

#### 5.2.1 标准曲线的制作

分别吸取 2 mL、4 mL、6 mL、8 mL 胆碱标准工作溶液于 10 mL 的容量瓶中，用水定容至刻度，配置成浓度分别为 50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L 的系列标准工作溶液，编号为稀释度 1、稀释度 2、稀释度 3、稀释度 4 和胆碱标准工作溶液 (250 mg/L)。准备 6 支试管，一个试管用作试剂空白 (A)，加入 0.100 mL 水，另五支试管由 1 至 5 编号，分别对应加入相同编号的系列标准工作溶液 0.100 mL。再在 6 支试管中加入 3.00 mL 用于酶反应的显色剂，用密封保护膜盖住试管，混匀，把试管置于  $37\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$  水浴中保温反应 15 min。

## 5.2.2 试样的测定

每个试样准备2支试管(B, C), 均加入待分析溶液 0.100 mL, 试管 B 加入 3.00 mL 水, 试管 C 加入 3.00 mL 用于酶反应的显色剂。用密封保护膜盖住试管, 混匀, 把试管置于 37 °C ±2 °C 水浴中保温反应 15 min。

## 5.2.3 比色测定

将试样及标准系列溶液从水浴中取出, 冷却至室温。在波长 505 nm 处, 用水作空白, 用 1 mL 石英比色皿测定吸光值。以胆碱标准溶液的浓度为横坐标, 以标准溶液的吸光值减去试剂空白的吸光值为纵坐标, 制作标准曲线。

## 6 分析结果的表述

### 6.1 净吸光值的计算

通常配制的试剂会产生轻微颜色, 且由于水解作用滤液也不是无色的, 为了除去这些干扰因素, 应该从总吸光值中减去各自的空白值(试管 A 和试管 B)。

试样净吸光值计算如公式(1)所示:

$$A = A_{\text{tot}} - A_{\text{bl}} - A_{\text{ex}} \quad (1)$$

式中:

A——试样净吸光值;

$A_{\text{tot}}$ ——总吸光值(试管 C);

$A_{\text{bl}}$ ——试剂吸光值(试管 A);

$A_{\text{ex}}$ ——滤液吸光值(试管 B);

$A_{\text{bl}}$  和  $A_{\text{ex}}$  不应大于总吸光值的 20%。对于标准曲线,  $A_{\text{ex}}=0$ , 如大于则适当稀释, 同时空白值(试管 A 和试管 B) 稀释相同的倍数。

### 6.2 胆碱含量的计算

试样中的胆碱以毫克每百克(mg/100 g)表示, 按公式(2)计算:

$$X = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000} \quad (2)$$

式中:

X——试样中的胆碱含量, 单位为毫克每百克(mg/100 g);

c——自标准曲线上查得的胆碱的浓度, 单位为毫克每升(mg/L);

V——水解液被稀释的体积(通常为 50 mL), 单位为毫升(mL);

m——试样的质量, 单位为克(g);

100——换算系数;

1 000——换算系数。

计算结果保留至整数位。

## 7 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算术平均值的 10%。

## 8 其他

当固态和半固态试样称样量为 5 g 时，方法的检出限为 1 mg/100 g，定量限为 3mg /100 g。当液态试样称样量为 20 g 时，方法的检出限为 0.25 mg/100 g，定量限为 0.75 mg /100 g。

## 第二法 离子色谱法

### 9 原理

样品经盐酸水解提取胆碱后，过净化柱净化，阳离子分析柱分离，电导检测器检测，外标法定量。

### 10 试剂和材料

本方法所使用试剂均按方法要求，水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 10.1 试剂

10.1.1 浓盐酸（HCl）：优级纯。

10.1.2 甲烷磺酸（CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H）：色谱纯。

#### 10.2 试剂配制

10.2.1 盐酸溶液（1 mol/L）：量取85 mL浓盐酸注入约900 mL水中，再定容至1 000 mL。

10.2.2 盐酸溶液（1.7 mol/L）：量取144.5 mL浓盐酸注入约800 mL水中，再定容至1 000 mL。

10.2.3 甲烷磺酸溶液（6 mmol/L）：吸取0.390 mL甲烷磺酸并用水定容至1 000 mL。

10.2.4 甲烷磺酸溶液（15 mmol/L）：吸取0.974 mL甲烷磺酸并用水定容至1 000 mL。

10.2.5 甲烷磺酸溶液（25 mmol/L）：吸取1.62 mL甲烷磺酸并用水定容至1 000 mL。

#### 10.3 标准品

酒石酸氢胆碱标准品（C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>7</sub>），CAS 号：87-67-2，纯度≥99%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

#### 10.4 标准溶液配制

10.4.1 胆碱（以胆碱氢氧化物计，下同）标准储备液（2 500 mg/L）：准确称取在102 °C ± 2 °C烘至恒重的酒石酸氢胆碱0.523 g（精确至0.1 mg），用水溶解并转移至100 mL容量瓶中定容至刻度，混匀。4 °C避光保存，保存期三个月。

10.4.2 胆碱标准工作液（100 mg/L）：吸取2.0 mL胆碱标准储备液（2 500 mg/L）于50 mL容量瓶中，用甲烷磺酸溶液（15 mmol/L）定容至刻度，4 °C避光保存，保存期一个月。

10.4.3 胆碱标准系列工作液：分别吸取胆碱标准工作液（100 mg/L）0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.5 mL、5.0 mL于一组100 mL容量瓶中，用甲烷磺酸溶液（15 mmol/L）定容至刻度混匀，配得胆碱浓度为为 0.2 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.5 mg/L、5.0 mg/L的标准系列工作液。临用现配。

注：根据样品中胆碱浓度可调整标准系列范围。

#### 10.5 材料

10.5.1 0.45 μm水性滤膜针头滤器。

10.5.2 净化柱：C<sub>18</sub>固相萃取小柱1.0 mL或相当者。

10.5.3 注射器：5 mL或相当者。

### 11 仪器和设备

11.1 离子色谱仪（IC）：配电导检测器、大容量阳离子交换柱。

- 11.2 分析天平：感量分别为 0.1 mg和0.01 g。  
11.3 电热恒温水浴装置：温度可控制在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。  
11.4 涡旋混合器。

## 12 分析步骤

### 12.1 样品前处理

#### 12.1.1 试样提取

##### 12.1.1.1 液态试样

准确称取 10 g（精确至 0.01 g）混合均匀的液体试样于 50 mL 具塞刻度玻璃试管中，加入 15 mL 盐酸溶液（1.7 mol/L），加盖，混匀后放入  $70\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴中水解 3 h（每 30 min 摇一次）。将水解产物冷却至室温，用水定容至刻度，混匀。此溶液可以在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下保存，待测。

##### 12.1.1.2 半固态和固态试样

准确称取 2.5 g（精确至 0.01 g）半固态或固体试样于 50 mL 具塞刻度玻璃试管中，加入 25 mL 盐酸溶液（1 mol/L），加盖，涡旋至试样溶液中无结块，混匀后放入  $70\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴中水解 3 h（每 30 min 摇一次）。将水解产物冷却至室温，用水定容至刻度，混匀。此溶液可以在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下保存，待测。

##### 12.1.2 试样净化

用水稀释提取溶液 50 倍<sup>a</sup>后，取稀释后的溶液约 15 mL，过  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  水性滤膜针头滤器和  $\text{C}_{18}$  固相萃取小柱<sup>b</sup>（1.0 mL），弃去前 3 mL，收集后面洗脱液待测。

注a：可根据试样中胆碱的浓度适当的调整稀释倍数，不得少于10倍。

注b： $\text{C}_{18}$ 固相萃取小柱（1.0 mL）使用前依次用10 mL甲醇、15 mL水通过，静置活化30 min。

### 12.2 仪器参考条件

#### 12.2.1 仪器参考条件1

a) 离子色谱柱参数：装有羧基的高容量阳离子交换柱，如 Ion Pac CS12A 4 mm×250 mm（带 Ion Pac CG12A 型保护柱 4 mm×50 mm），或等效色谱柱。

b) 等度淋洗：甲烷磺酸溶液（15 mmol/L）等度淋洗，采集时间 25 min。

c) 流速：1.0 mL/min。

d) 电导检测器：配抑制器或等效抑制装置。

e) 进样量：100  $\mu\text{L}$ （可根据试样中被测离子含量进行调整）。

#### 12.2.2 仪器参考条件2

a) 离子色谱柱参数：装有羧基的高容量阳离子交换柱，如 Ion Pac CS19 4 mm×250 mm（带 Ion Pac CG19 型保护柱 4 mm×50 mm），或等效色谱柱。

b) 等度淋洗：甲烷磺酸溶液（6 mmol/L）等度淋洗，采集时间 25 min。

c) 流速：1.0 mL/min。

d) 电导检测器：配抑制器或等效抑制装置。

e) 进样量：100  $\mu\text{L}$ （可根据试样中被测离子含量进行调整）。

### 12.3 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入离子色谱仪，测定相应的电导率峰面积或峰高信号。以标准系列工作液的浓度为横坐标，以电导率峰面积或峰高信号为纵坐标，绘制标准曲线。

胆碱标准溶液的离子色谱图参见附录 A。

### 12.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入离子色谱仪中，得到相应的电导率峰面积或峰高信号，根据标准曲线得到待测液中胆碱的浓度。

### 13 分析结果的表述

试样中胆碱的含量按公式（3）计算：

$$X = \frac{c \times V \times f \times 100}{m \times 1000} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$X$ ——试样中胆碱的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；

$c$ ——由标准曲线得到的试样溶液中胆碱的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

$V$ ——定容的体积，单位为毫升（mL）；

$m$ ——试样的取样量，单位为克（g）；

$f$ ——稀释倍数；

100——换算系数；

1 000——换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

### 14 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算术平均值的10 %。

### 15 其他

当固态和半固态试样称样量为2.5 g时，方法的检出限为2 mg/100 g，定量限为6 mg/100 g。当液态试样称样量为10 g时，方法的检出限为0.5 mg/100 g，定量限为1.5 mg/100 g。

## 第三法 液相色谱-串联质谱法

### 16 原理

试样中的胆碱经盐酸水解提取后，调节 pH 值，经微孔滤膜过滤，液相色谱-串联质谱测定，同位素内标法定量。

### 17 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 17.1 试剂

17.1.1 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

17.1.2 乙腈（CH<sub>3</sub>CN）：色谱纯。

17.1.3 甲酸铵（HCOONH<sub>4</sub>）：纯度≥99.9 %。

17.1.4 浓盐酸（HCl）。

17.1.5 氢氧化钠（NaOH）：纯度≥99.9 %。

#### 17.2 试剂配制



17.2.1 甲酸铵水溶液 (10 mmol/L): 称取 0.63 g (精确至 0.01g) 甲酸铵, 用水溶解后转移至 1 000 mL 容量瓶中, 用甲酸调节 pH 至  $5.0 \pm 0.1$ , 用水定容至刻度, 超声混匀。

17.2.2 盐酸溶液 (1 mol/L): 量取 85 mL 浓盐酸注入约 900 mL 水中, 再用水定容至 1 000 mL。

17.2.3 氢氧化钠溶液 (1 mol/L): 称取 2.0 g (精确至 0.01 g) 氢氧化钠用水溶解转移至 50 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀备用。

17.2.4 80%乙腈水溶液: 取 80 mL 乙腈, 用水稀释至 100 mL。

### 17.3 标准品

17.3.1 酒石酸氢胆碱标准品 ( $C_9H_{19}NO_7$ ), CAS 号: 87-67-2, 纯度  $\geq 99\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

17.3.2 稳定同位素内标: 氯化胆碱- $d_4$  ( $C_5H_{10}NOD_4Cl$ ), CAS 号: 285979-70-6, 纯度  $\geq 99.8\%$ , 或相当者。

### 17.4 标准溶液配制

17.4.1 胆碱(以胆碱氢氧化物计)标准储备液 (100 mg/L): 准确称取 20.92 mg (精确至 0.01 mg) 酒石酸氢胆碱, 用 80%乙腈水溶液溶解并定容至 100 mL。摇匀后将溶液转移至棕色玻璃瓶中, 4℃避光保存, 保存期一个月。

17.4.2 胆碱标准工作液 (1.0 mg/L): 吸取 1.00 mL 胆碱标准储备液 (100 mg/L) 于 100 mL 容量瓶中, 用甲酸铵水溶液 (10 mmol/L) 定容至刻度。临用现配。

17.4.3 胆碱- $d_4$  内标储备液 (1 000 mg/L): 准确称取 13.3 mg (精确至 0.01 mg) 氯化胆碱- $d_4$ , 用 80%乙腈水溶液溶解并转移至 10 mL 棕色容量瓶重并定容至刻度, 4℃避光保存, 保存期三个月。

17.4.4 胆碱- $d_4$  内标工作液 (1.0 mg/L): 吸取 0.10 mL 胆碱- $d_4$  内标储备液 (1000 mg/L) 于 100 mL 容量瓶中, 用甲酸铵水溶液 (10 mmol/L) 定容至刻度, 4℃避光保存, 保存期一个月。

17.4.5 标准系列工作液: 分别准确吸取胆碱标准工作液 (1.0 mg/L) 0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL 至 10 mL 容量瓶中, 各加入 500  $\mu$ L 胆碱- $d_4$  内标工作液 (1.0 mg/L), 用甲酸铵水溶液 (10 mmol/L) 定容至刻度混匀, 该标准系列的胆碱浓度分别为 10  $\mu$ g/L、20  $\mu$ g/L、50  $\mu$ g/L、100  $\mu$ g/L、150  $\mu$ g/L、200  $\mu$ g/L, 临用现配。

### 17.5 材料

17.5.1 0.22  $\mu$ m 水性滤膜针头滤器。

17.5.2 注射器: 5 mL 或相当者。

## 18 仪器和设备

18.1 液相色谱-串联质谱仪: 带电喷雾离子源 (ESI)。

18.2 天平: 感量分别为 0.01 mg 和 0.01 g。

18.3 恒温水浴装置: 温度可控制在  $70 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

18.4 pH 计: 精度 0.01。

18.5 超声波清洗器。

## 19 分析步骤

### 19.1 样品前处理

#### 19.1.1 液体和半固态试样

准确称取 2.5 g~10 g (精确至 0.01 g) 试样, 用温水溶解后, 转移至 25 mL 容量瓶中, 冷却至室

温后，用水定容至刻度摇匀。吸取 1 mL 样液于 50 mL 具塞刻度玻璃试管中，备用。

### 19.1.2 固体试样

准确称取 1 g~5 g（精确至 0.01 g）试样，用温水溶解后，转移至 100 mL 容量瓶中，冷却至室温后，用水定容至刻度。吸取 1 mL 样液于 50 mL 具塞刻度玻璃试管中，备用。

### 19.1.3 试样提取

在上述样液中，加 50  $\mu$ L 胆碱- $d_4$  内标储备液（1 000 mg/L）后，加入 10 mL 盐酸溶液（1 mol/L）小心摇晃均匀，超声震荡 5 min。样品在 70  $\pm$  2  $^{\circ}$ C 水浴中加热 3 h（每隔 30 min 摇匀一次），冷却至室温后用氢氧化钠溶液（1 mol/L）调节 pH 至 5.0~5.3，转移至 100 mL 容量瓶，用水定容到刻度。然后用甲酸铵水溶液（10 mmol/L）稀释 10 倍后，经 0.22  $\mu$ m 水性滤膜过滤至进样瓶中，待测。

## 19.2 仪器参考条件

### 19.2.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：Amide 色谱柱（1.7  $\mu$ m，2.1 mm $\times$ 100 mm），或相当者。
- 流动相 A：甲酸铵水溶液（10 mmol/L）（pH=5.0）；流动相 B：乙腈。
- 流速：0.3 mL/min。
- 柱温：40  $^{\circ}$ C。
- 进样体积：2  $\mu$ L。
- 梯度洗脱条件见表 1。

表 1 梯度洗脱条件

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~1.0	10	90
1.0~3.0	40	60
3.0~4.0	40	60
4.0~5.0	10	90
5.0~8.0	10	90

### 19.2.2 质谱参考条件

- 电离模式：ESI<sup>+</sup>；
- 检测方式：多离子反应监测（MRM）；
- 毛细管电压：3.1 kV；
- 离子源温度：150  $^{\circ}$ C；
- 辅助气温度：350  $^{\circ}$ C；
- 辅助气流量：600 L/h；
- 椎孔吹扫气流量：150 L/h；
- LM2 射频透镜电压：2.75 V；
- HM2 射频透镜电压：14.99 V。

表 2 主要质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
胆碱	104.0	25	60.0*/45.0	15
氯化胆碱- $d_4$	108.0	25	60.0*/49.0	15

注：\*为定量离子

## 19.3 标准曲线的制作

将胆碱标准系列工作液浓度由低到高分别注入液相色谱-串联质谱仪中，以胆碱浓度为横坐标，以胆碱与氯化胆碱- $d_4$  内标峰面积比 ( $A_{\text{胆碱}}/A_{\text{氯化胆碱-}d_4}$ ) 和同位素质量浓度的乘积为纵坐标，绘制胆碱的标准曲线。

#### 19.4 试样溶液的测定

##### 19.4.1 定性测定

试样溶液中胆碱和氯化胆碱- $d_4$  的响应值均应在仪器检测的线性范围之内。试样溶液中的离子相对丰度与标准溶液的离子相对丰度比应符合表 3 的要求。定性参考母离子为 104.0 m/z，参考子离子 1 为 60.0 m/z，参考子离子 2 为 45.0 m/z (参见附录 B 图 B.1)。胆碱扫描出峰参考保留时间为 3.31 min (参见附录 B 图 B.2)。

表 3 试样溶液中离子相对丰度的允许偏差范围

相对丰度 (%)	> 50	> 20-50	> 10-20	≤10
允许偏差 (%)	±20	±25	±30	±50

##### 19.4.2 定量测定

将试样溶液注入液相色谱-串联质谱仪中，根据标准曲线得到待测液中胆碱的浓度。

#### 20 分析结果的表述

试样中胆碱的含量按式 (4) 计算：

$$X = \frac{c \times V \times f \times 100}{m \times 1\,000\,000} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

- $X$ ——试样中胆碱的含量，单位为毫克每百克 (mg/100 g)；
- $c$ ——根据标准曲线计算得到的进样溶液中胆碱的浓度，单位为纳克每毫升 (ng/mL)；
- $V$ ——试样经温水溶解后定容的体积，单位为毫升 (mL)；
- $m$ ——试样质量，单位为克 (g)；
- $f$ ——稀释倍数，其值为 1 000；
- 100——换算系数；
- 1 000 000——换算系数；

计算结果保留三位有效数字。

#### 21 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算术平均值的 10 %。

#### 22 其他

称取液体、半固体试样 2.5 g 时，本方法的检出限为 0.24 mg/100 g，定量限为 0.8 mg/100 g；称取固体试样 1 g 时，本方法的检出限为 2 mg/100g，定量限为 8 mg/100 g。

## 附录 A

## 胆碱标准溶液的离子色谱图

参考条件一离子色谱图（浓度 1 mg/L）见图 A.1。

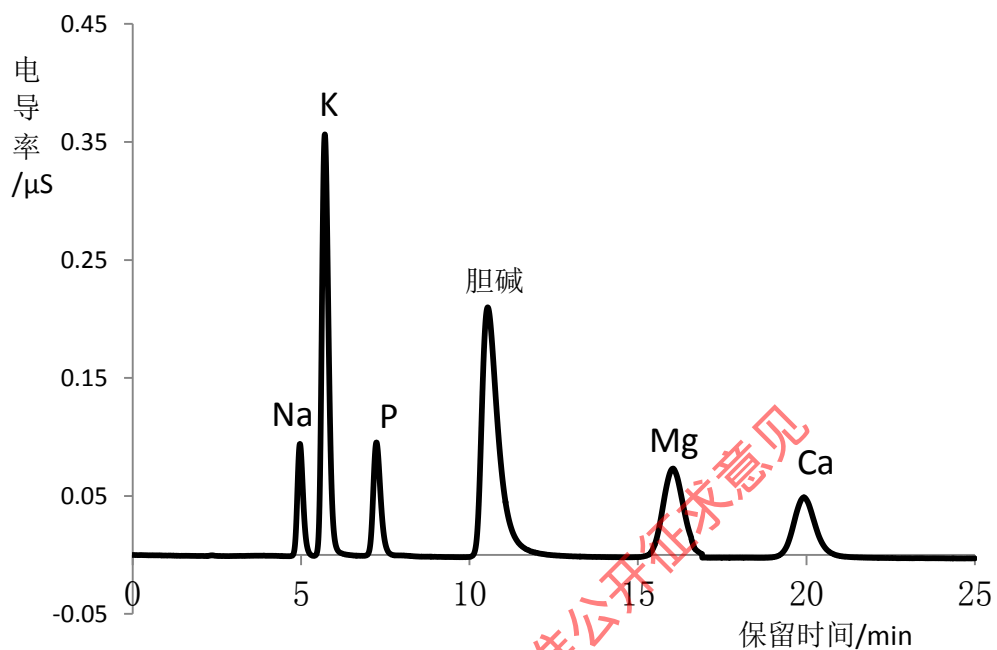


图 A.1 Ion Pac CS12A 等度淋洗色谱图（浓度 1 mg/L）

参考条件二离子色谱图（浓度 5 mg/L）见图 A.2。

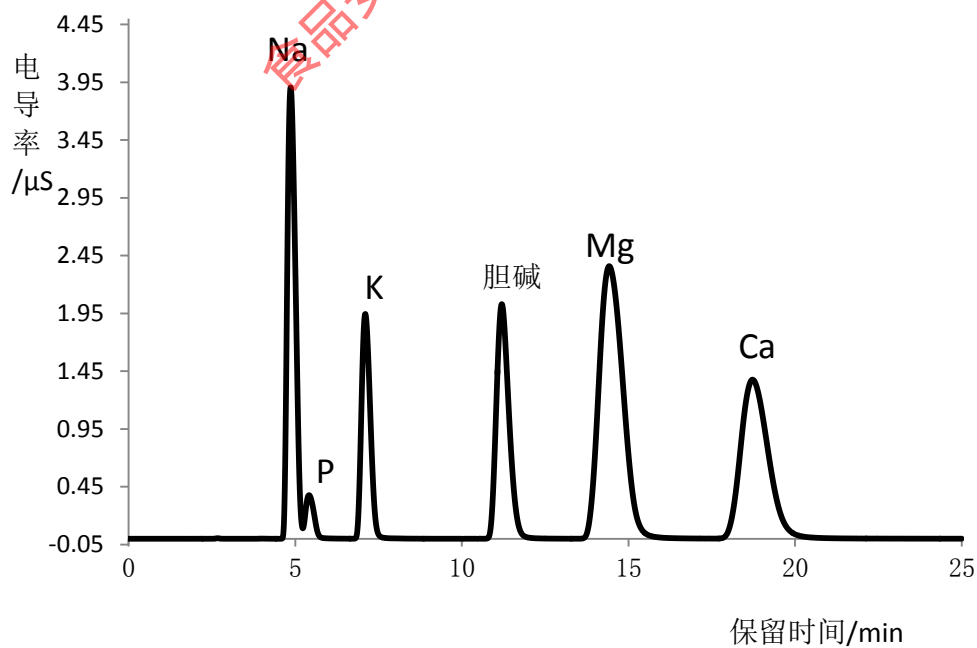


图 A.2 Ion Pac CS19 色谱柱等度淋洗色谱图（浓度 5 mg/L）

食品安全国家标准公开征求意见稿  
已提交至国家标准委征求意见

## 附录 B

## 胆碱标准品质谱扫描图及标准溶液、内标多反应监测 (MRM) 图

胆碱标准品质谱扫描图见图 B.1。

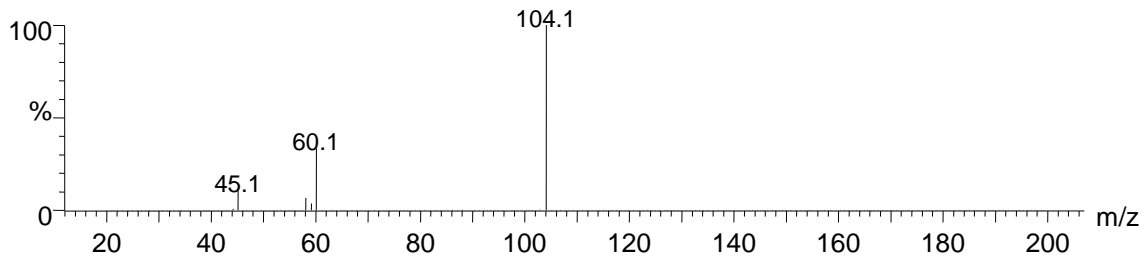


图 B.1 胆碱标准品 (100 µg/L) 质谱扫描图

(图中 104.1 m/z 为参考母离子, 60.1 m/z 为参考子离子 1, 45.1 m/z 为参考子离子 2)

胆碱标准溶液及其内标多反应监测 (MRM) 图见图 B.2

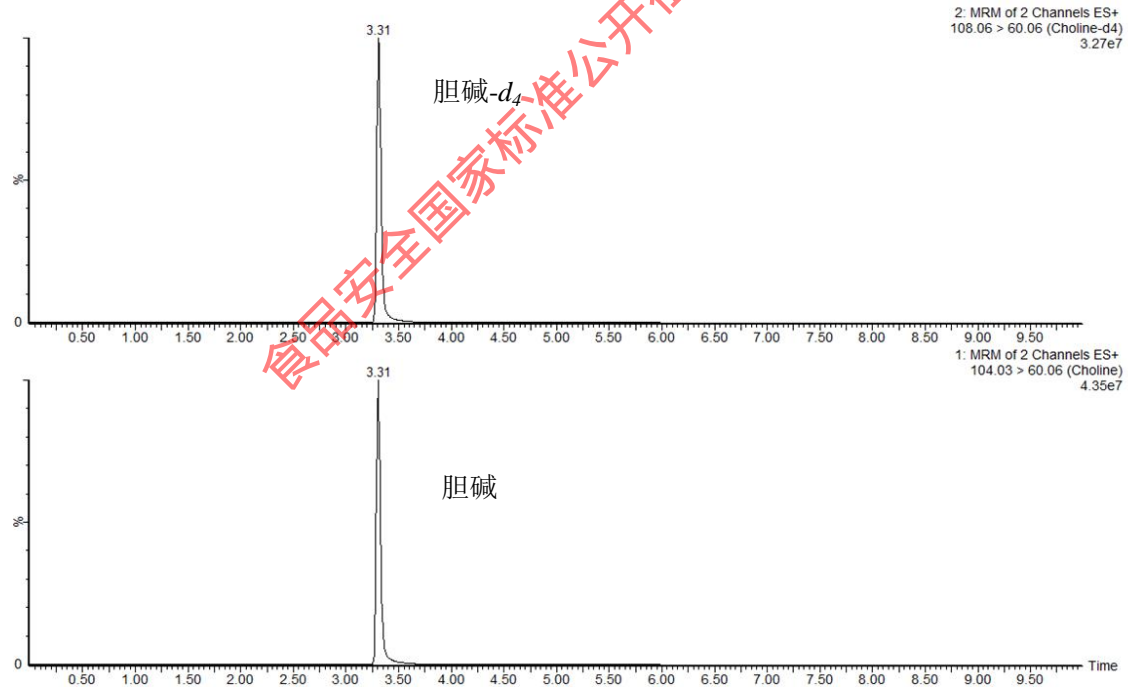


图 B.2 胆碱标准溶液 (50 µg/L) 及其内标的 MRM 图