

# 离子色谱法检测婴幼儿奶粉中的胆碱

焦霞\*

(安徽皖仪科技股份有限公司)

**摘要 目的：**建立了离子色谱电导检测法测定奶粉中胆碱的方法。**方法：**奶粉溶解后经过乙腈沉淀蛋白后，采用离子色谱进样分析。**结果：**在 0.1~10 mg/L 范围内，线性关系良好，相对标准偏差为 0.95% (n=6)，加标回收率在 95.7~101%之间。**结论：**该方法快速、准确、简便且重现性好。

**关键词** 离子色谱 奶粉 胆碱

## 引言

胆碱(choline)是复合维生素 B 族成分，也常与肌醇组合成剂。它们能在体内生成卵磷脂，促进胆固醇代谢，用于治疗脂肪肝、肝硬化、血管硬化；此外胆碱对大脑记忆区神经元及神经突触形成有关键作用，故可促进脑发育，并提高记忆能力。由于胆碱对人体正常的新陈代谢起着重要的作用，因此它经常被加入到婴儿食品、维生素配方和运动饮料中。试验证明在婴幼儿时期摄入适量的胆碱能够帮助提升宝宝的记忆能力。现行国标采用酶反应分光光度法<sup>[1]</sup>，该方法所需酶种类多同，不易购买，且实验操作较难控制。关于婴幼儿奶粉中胆碱测定的方法有 HPLC<sup>[2]</sup>，该方法的样品前处理复杂、时间长。运用离子色谱检测奶粉中胆碱的文献也有报道<sup>[4,5]</sup>，但是从文献中的谱图发现胆碱的峰型不对称，影响了实际样品中胆碱的定量准确性。本文采用乙腈沉淀蛋白的方法对奶粉样品进行前处理，进入离子色谱进行分析，样品前处理简单、胆碱色谱峰对称、奶粉样品的回收率在 95.7~101%之间。该方法快速、准确、简便，重现性好，是产品检测和质量控制的有效手段。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器及材料

IC6200离子色谱仪(安徽皖仪科技股份有限公司)；电导检测器(WY-CD-1, 安徽皖仪科技股份有限公司)；微型旋涡混合仪(WH-3,上海沪西分析仪器有限公司)；一次性尼龙过滤膜(0.22 $\mu$ m, 天津博纳艾杰尔科技有限公司)；固相萃取小柱(IC-RP,天津博纳艾杰尔科技有限公司)。

### 1.2 试剂

氯化胆碱(AR,98%,阿拉丁试剂)；甲烷磺酸(CP, 国药集团有限公司)；乙腈(色谱纯, 美国天地)；甲醇(色谱纯, 国药集团有限公司)试验用水为二次去离子水(18.2 M $\Omega$ )；试验所用奶粉样品是未市售商品。

### 1.3 标准储备液配制

精密称取氯化胆碱对照品0.1368 g，置于100 mL容量瓶中，加二次去离子水适量溶解，并稀释至刻度，摇匀得到1000 mg/L的氯化胆碱，作为对照品储备液。

### 1.4 样品溶液制备

精确称取0.5 g 奶粉样品，置于10 mL容量瓶中，加入4mL二次去离子水进行充分溶解，使用色谱纯乙腈定容至10 mL，在微型旋涡混合仪上充分混匀，室温沉降蛋白10min。取上清液，使用去离子水稀释10倍，依次过0.22 $\mu$ m一次性尼龙过滤膜和活化后的IC-RP小柱，进入离子色谱进行分析；

其中一次性尼龙过滤膜使用前需用二次去离子水进行多次清洗,清洗后将其中的水去除;

固相萃取柱使用前需进行活化,具体活化过程为: IC-RP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;

样品溶液过 固相萃取小柱,弃去前5 mL流出液,收集其后2 mL直接进行离子色谱分析。

## 2 实验结果与讨论

### 2.1 色谱条件

色谱柱: 色谱柱WY-cation-2 (150mm×4.6mm, 安徽皖仪科技股份有限公司); 淋洗液: 2.5 mmol/L 甲烷磺酸溶液; 流速: 0.8 ml/min; 柱温: 40℃; 电导检测器温度: 30℃; 进样量: 30 μL。

### 2.2 色谱柱的选择

由于胆碱是一种强有机碱,在水溶液中以阳离子的形式存在,因此选择采用离子交换分离色谱柱对其进行分析。而离子交换分离色谱柱的填料存在两种基质: 硅胶基质和苯乙烯聚苯乙烯基质。通过试验,发现采用苯乙烯聚苯乙烯基质的色谱柱获得的色谱峰峰型更为对称,而采用硅胶基质的色谱柱获得的色谱峰峰型有拖尾现象; 同时发现采用相同浓度的淋洗液,胆碱在苯乙烯聚苯基质的色谱柱上保留较弱,且与其它常规阳离子实现了基线分离,而在硅胶基质上的色谱柱上保留较强。因此最终选择了苯乙烯聚苯乙烯基质的WY-cation-2阳离子交换色谱柱,既可以保证获得胆碱色谱峰的对称性,又保证了分析效率提高了4倍,见图1 采用两种基质的色谱柱获得的胆碱的色谱图。

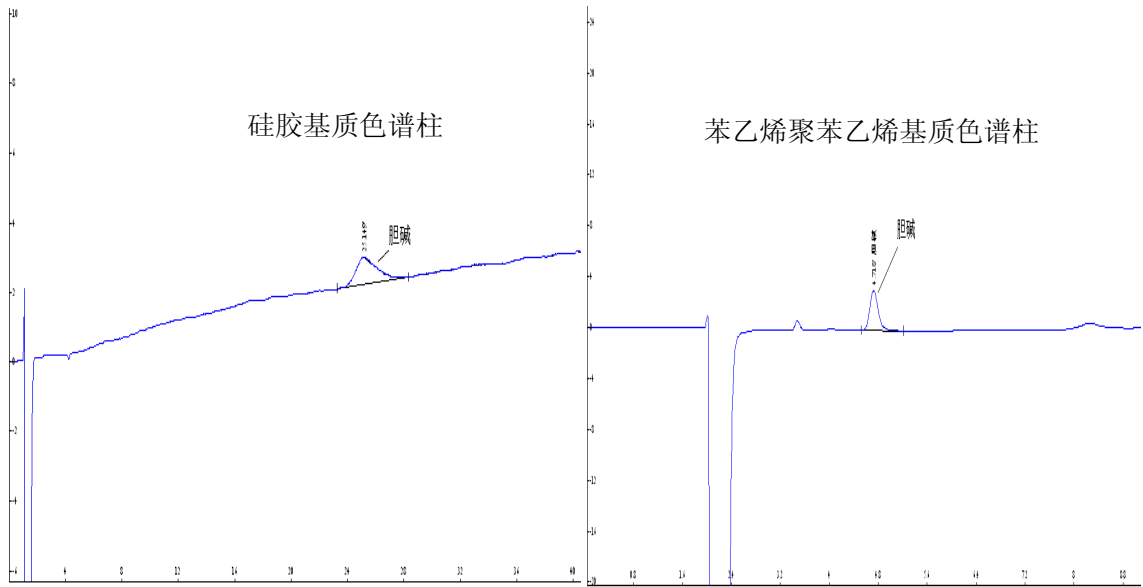


图1 采用两种基质的色谱柱获得的胆碱的色谱图  
色谱峰(mg/L):1.胆碱 (2.5)

### 2.3 淋洗液浓度的选择

对不同浓度 (2.0、2.5、3.0 mmol/L) 的甲烷磺酸淋洗液进行考察,试验表明, 2.5 mmol/L 的甲烷磺酸淋洗液为最佳淋洗条件,在此条件下,实现了胆碱与常规阳离子的基线分离,同时分析时间较短。图2为此色谱条件下,胆碱与常规阳离子混合标准溶液色谱图。

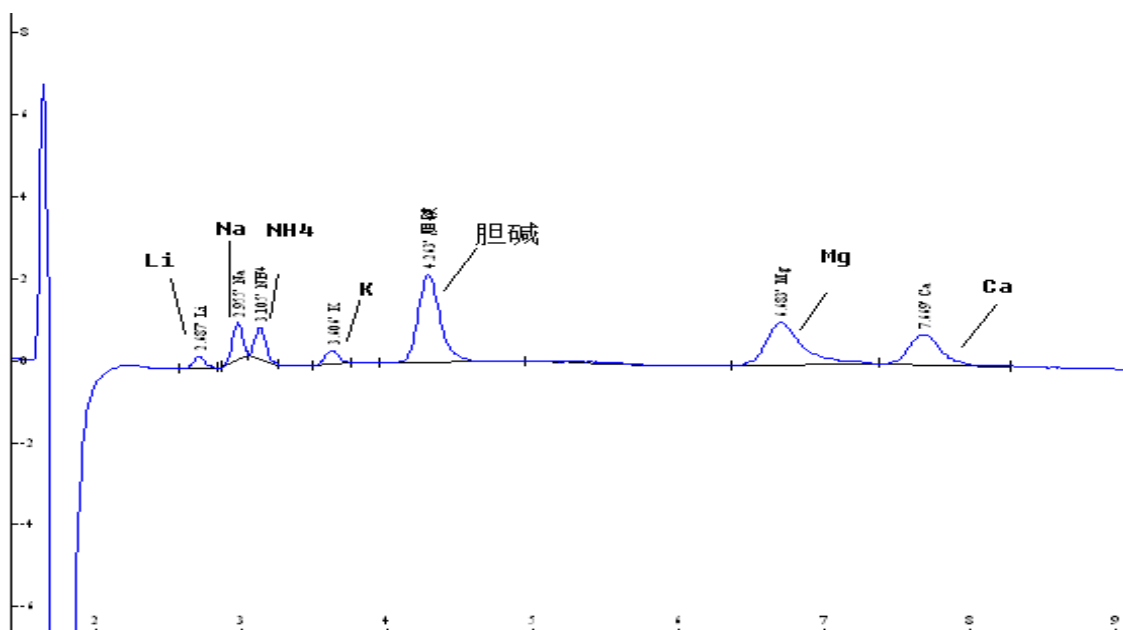


图2混合标准溶液色谱图

色谱峰 (mg/L) :1.Li<sup>+</sup> (0.2) 2.Na<sup>+</sup>(0.5) 3.NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (0.5) 4.K<sup>+</sup>(0.5) 5.胆碱 (5.0) 6.Mg<sup>2+</sup> (2.0) 7.Ca<sup>2+</sup> (2.0)

## 2.4精密度实验、线性关系及检出限

取适量储备液配制成质量浓度分别为0.1,0.5,2.5,5.0,10 mg/L的胆碱溶液，在“2.1”节所述的色谱条件下，绘制胆碱的工作曲线。结果表明胆碱质量浓度（C<sub>胆碱</sub>）在0.1-10mg/L范围内和峰面积（A,mv • min）呈良好的线性关系，见图3胆碱工作曲线图。根据3倍信噪比（S/N），确定方法的检出限为12.6 μg/L。对质量浓度为2.5 mg/L胆碱的标准溶液分别进行6次平行测定，峰面积的相对标准偏差（RSD%）为 0.95%。

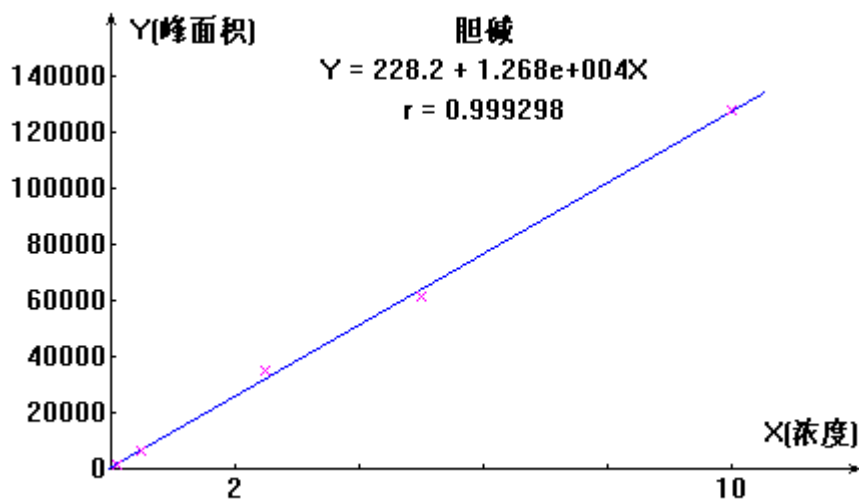


图3胆碱工作曲线图

2.5实际样品分析及加标回收率试验

在选择的色谱条件下，对处理过的奶粉样品运用离子色谱进行空白和加标分析，图 4 为某品牌奶粉样品空白和加标分析色谱图。

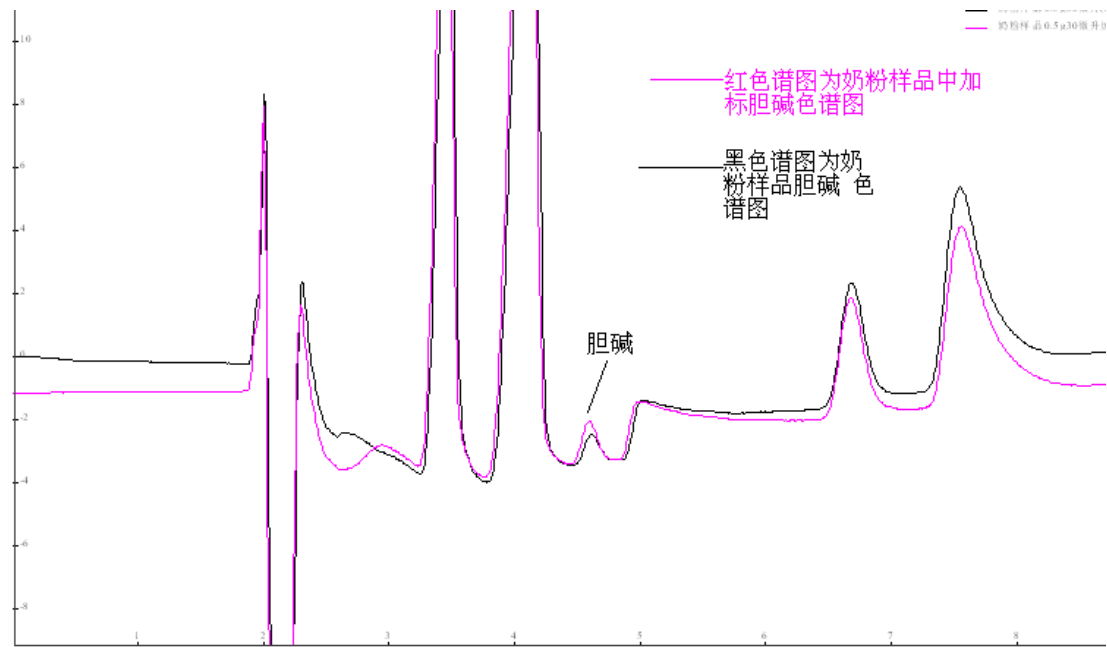


图4为某品牌奶粉样品空白和加标分析色谱图

选取一奶粉称取0.5g共3份，在其中加入胆碱标准储备液0.1 mL，混匀后按照1.4样品溶液制备处理，结果如表1所示。由表1可以看出，奶粉中胆碱的回收率在95.7~101.0%之间。

表1奶粉中胆碱加标回收率实验

| 编号 | 本底胆碱含量<br>(mg/L) | 加入胆碱量(mg/L) | 实际测得胆碱含量<br>(mg/L) | 回收率 (%) |
|----|------------------|-------------|--------------------|---------|
| 1  | 2.066            | 1.000       | 3.023              | 95.7    |
| 2  | 2.066            | 1.000       | 3.076              | 101.0   |
| 3  | 2.066            | 1.000       | 3.067              | 100.1   |

3 结论

通过对奶粉进行乙腈沉淀蛋白前处理，运用离子色谱法对奶粉中的胆碱进行定性定量测定，方法线性良好，定量准确，重复性 RSD 为 0.95%，回收率在 95.7~101.0%之间，该方法操作简便，干扰少，适合奶粉中胆碱的日常检测。

参考文献

- [1] 中华人民共和国食品安全国家标准.GB / T5413.20—1997《婴幼儿配方食品和乳品胆碱的测定》[s].国家技术监督局,1997:85 — 87 .
- [2] 龚文杰, 马建明, 赵立达. 高效液相色谱法测定奶粉中磷脂酰胆碱含量研究[ J ]. 中国卫生检验杂志, 2005, 11( 15):1331—1332 .
- [3] 顾秀英, 顾菊芳, 杨琳, 王东铭, 姚春华.离子色谱法测定奶粉中胆碱质量分数.中国乳品工业, 2011, 39 (7) : 47—49.
- [4] 黄丽, 刘京平, 容晓文.在线渗析—离子色谱法直接测定奶粉中胆碱.中国卫生检验杂志, 2008, 18 (3) : 445—447.