

LC-MS/MS 法测定婴幼儿奶粉中胆碱含量

LCMSMS-734

摘要： 本文参照 GB 5413.20-2022《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定》，建立了婴幼儿奶粉中胆碱含量测定的方法。在优化后的色谱及质谱条件下，采用正离子模式扫描，通过多反应监测模式对目标化合物进行测定。结果表明：胆碱在 1~500 ng/mL 的范围内线性良好，所得校准曲线相关系数在 0.9994 以上，各校准点准确度在 95.90%~105.35% 之间，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.08% 和 3.48% 以内，加标回收率在 96.1%~103.1% 之间。

关键词： LC-MS/MS 胆碱 婴幼儿奶粉 内标法

技术特点：

- ❖ 满足 GB 5413.20-2022《婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定》的相关要求，具更宽线性范围。
- ❖ 高灵敏度，内标法定量，校准曲线最低点浓度低至 1 ng/mL。

胆碱 (choline) 是一种强有机碱，有很强的吸湿性，暴露于空气中能很快吸水。其广泛存在于动植物中，是卵磷脂和鞘磷脂的重要组成部分，具有促进脑部发育，提高记忆力，保证信息传递，调控细胞凋亡等多种作用。

GB 5413.20-2022《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定》将于 2022 年 12 月 30 日正式实施，其规定了婴幼儿食品和乳品中胆碱测定的方法，包括酶比色法、离子色谱法和液相色谱 - 串联质谱法。GB 10765-2021《食品安全国家标准 婴儿配方食品》和

GB 10766-2021《食品安全国家标准 较大婴儿配方食品》中均规定，胆碱作为新的必需营养成分，在食品中的添加量为 4.8~23.9 mg/100 kJ。

本文采用岛津三重四极杆液质联用仪，参照 GB 5413.20-2022《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定》第三法，对婴幼儿奶粉中的胆碱进行测定，本方法灵敏度高、重现性好，可为食品行业相关人员提供参考。

实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用系统。配置信息如下：

系统控制器：	SCL-40	输液泵：	LC-40B X3
自动进样器：	SIL-40C X3	柱温箱：	CTO-40C
质谱：	LCMS-8050	工作站：	Labsolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

1.2.1 液相条件

色谱柱：Shim-pack GIST Amide (100 mm×2.1 mm I.D., 3 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-30818-04)

流动相：A-10 mmol/L 甲酸铵水溶液；B- 乙腈

流速：0.3 mL/min

进样量：1 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 90%，洗脱程序见表 1

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	B.Conc	90
3.00	Pumps	B.Conc	60
4.00	Pumps	B.Conc	60
5.00	Pumps	B.Conc	90
8.00	Controller	Stop	

1.2.2 质谱条件

分析仪器：	LCMS-8050	接口温度：	300°C
离子源：	ESI(+)	D L 温度：	200°C
雾化气流速：	3.0 L/min	加热模块温度：	400°C
干燥气流速：	10.0 L/min	扫描模式：	多反应监测 (MRM)
加热气流速：	10.0 L/min	MRM 参数：	见表 2

表 2 MRM 参数

序号	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 PreBias (V)	CE (V)	Q3 PreBias (V)
1	胆碱	62-49-7	104.0	60.1*	-20	-23	-22
				45.1	-18	-24	-16
2	氯化胆碱-D4	285979-70-6	108.0	60.0*	-20	-23	-20
				49.0	-16	-24	-18

* 表示定量离子对

1.3 混合标准工作溶液的制备

参照 GB 5413.20-2022《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定》第三法，采用 80% 乙腈 - 水将烘至恒重的胆碱酒石酸氢盐和氯化胆碱 -D4 标准品先后溶解、稀释，最终得到浓度分别为 1.00 ng/mL、2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、100ng/mL、200 ng/mL 和 500 ng/mL 的胆碱，浓度为 50.0 ng/mL 的氯化胆碱 -D4 标准工作溶液。

■ 样品前处理

样品前处理操作参照 GB 5413.20-2022《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定》第三法。

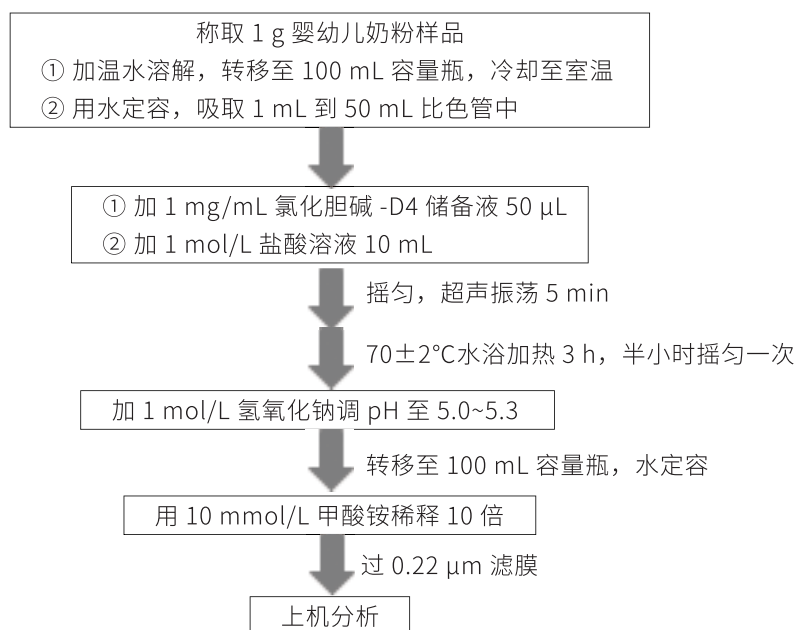


图 1 婴幼儿奶粉样品提取流程图

■ 结果与讨论

3.1 MRM 色谱图

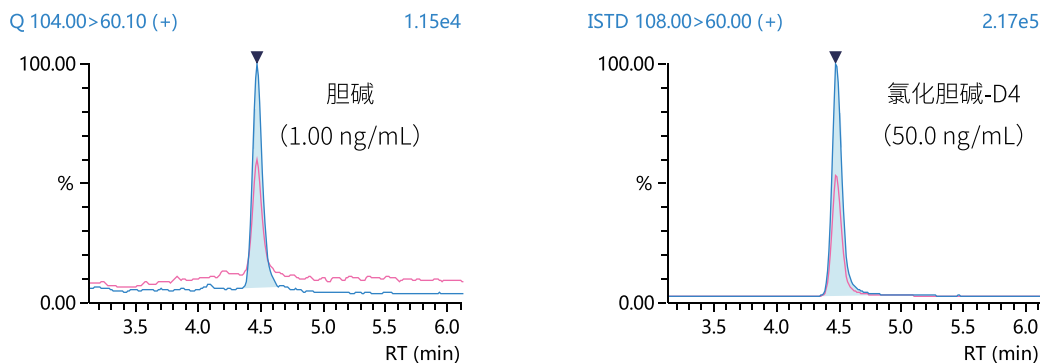


图2 标准溶液 MRM 色谱图

3.2 校准曲线、检出限及定量限

将“1.3 混合标准工作溶液”按“1.2 分析条件”进行测定，使用内标法定量。以待测物定量离子与内标物定量离子峰面积比为纵坐标，对应的浓度比值为横坐标，绘制校准曲线，如图3所示。所得校准曲线相关系数大于0.9994，准确度在95.90%~105.35%之间，Labsolutions软件依据信噪比自动计算检出限(S/N=3)及定量限(S/N=10)。检出限及定量限结果分别为0.05 ng/mL和0.15 ng/mL。

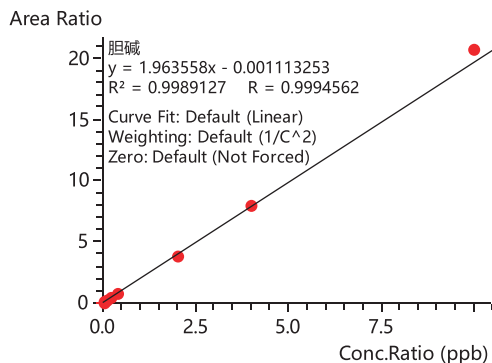


图3 校准曲线

3.3 精密度结果

采用标准工作溶液连续测定6次，考察仪器的精密度。结果如表3所示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.08%和3.48%以内，显示仪器精密度良好。

表3 精密度结果 (n=6)

目标物	理论浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
胆碱	1.00	0.08	3.48

3.4 加标回收率

准确称取某品牌婴幼儿奶粉样品，按照“2. 样品前处理”项下进行提取，然后上机测试。根据测得结果，样品中胆碱的含量为152.2 mg/100 g。向样品中加入低、中和高三个浓度的胆碱的标准溶液，按照“2. 样品前处理”方法处理后上机分析，加标回收率结果见表4。结果显示：不同加标浓度下，胆碱加标回收率在96.1%~103.1%之间。

表 4 加标回收率结果 (n=3)

目标物	样本浓度 (mg/100 g)	添加浓度 (mg/100 g)	实测浓度 (mg/100 g)	平均回收率 (%)	RSD (%)
胆碱	152.2	100	255.4	103.1	6.72
	152.2	200	344.5	96.1	9.46
	152.2	400	562.3	102.5	2.02

3.5 样品测定结果

取市售某品牌婴幼儿奶粉样品 1 g, 每批次 6 样品, 按照“2. 样品前处理”方法处理及“1.2 分析条件”进行测定, 回算后的婴幼儿奶粉中胆碱含量结果见表 5。

表 5 样品测定结果 (mg/100 g, n=6)

目标物	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD (%)
胆碱	146.1	148.6	161.0	160.5	149.6	147.6	152.2	4.40

■ 结论

本应用采用岛津三重四极杆液质联用仪, 参照 GB 5413.20-2022《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定》第三法, 建立了婴幼儿奶粉中胆碱含量测定的方法, 本方法灵敏度较高、重现性较好, 可为食品行业相关人员提供参考。

岛津应用云

