

婴幼儿配方食品中胆碱的检测方法研究进展

刘金梅, 谢 普, 周 钧, 葛 城, 詹胜群, 周荣杰, 储晓刚, 易 灿*

(澳优乳业(中国)有限公司质量管理中心, 长沙 410200)

摘 要: 婴幼儿配方食品是婴幼儿成长过程中重要的营养来源载体, 其中的成分和比例尤为重要。胆碱作为婴幼儿配方食品中必备的添加营养素, 对婴幼儿成长发育起到至关重要的作用, 特别是智力成长方面。因此对婴幼儿配方食品中胆碱含量的准确检测是保障产品质量的重要手段。本文对胆碱现有检测方法进行综合论述分析, 介绍了各种方法的原理、优缺点及其应用现状, 并对其检测方法的发展提出了展望, 以期开发出适用性更强、效率及精准度更高的胆碱检测方法提供参考依据。

关键词: 胆碱; 检测方法; 应用现状

Research progress on the detection methods for choline in infant formula

LIU Jin-Mei, XIE Pu, ZHOU Jun, GE Cheng, ZHAN Sheng-Qun, ZHOU Rong-Jie,
CHU Xiao-Gang, YI Can*

(Quality Management Center, Ausnutria Dairy (China) Co. Ltd., Changsha 410200, China)

ABSTRACT: Infant formula is an important carrier of nutrients in the growth of infants, and the ingredients and proportions in infant formula are very important. As an essential nutrient in infant formula, choline plays a vital role in infants growth and development, especially in intellectual growth. Therefore, accurate detection of choline content in infant formula is an important measure of product quality assurance. This paper comprehensively analyzed the existing detection methods of choline, and analyzed the principles, advantages and disadvantages of various methods and their application status, proposed the prospects for the development of its detection methods, so as to provide a reference for the development of choline detection methods with greater applicability, efficiency and accuracy.

KEY WORDS: choline; detection method; application status

1 引 言

胆碱由 Adolph Strecker 于 1849 年从猪胆汁中分离得到, 故又名胆素, 直至上世纪三十年代才逐步明确其营养价值和作用^[1]。胆碱广泛存在于机体不同组织和器官中, 是胆汁、大脑、蛋黄、啤酒花、颠茄、石竹等动植物器官的主要成分, 也是母乳中的必需营养成分, 亦是羊水、血液等不同生物液体的组成成分^[2]。胆碱在人体的生产发育过程中起着至关重要的作用, 研究表明, 胆碱对于大脑的

发育及代谢、神经系统信息传递、视力的增强以及钙的代谢等功能均有积极的促进和改善效能^[3]。此外胆碱能够影响胎儿的大脑发育, 增强宝宝的记忆力, 对神经管的闭合起到关键作用; 缺乏胆碱可能会导致记忆力损伤、肾脏损害、干细胞受损及引起心脑血管疾病^[4,5]。目前, 对于人体缺乏胆碱所受影响的相关研究较多, 对于人体过量摄入胆碱的风险却不明确, 相关研究也鲜见报导, 因此胆碱的摄入量只需满足机体需求即可, 无需过量摄入。

早在 1991 年, 欧洲联盟颁布的法规已将胆碱列为允

*通讯作者: 易灿, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全和质量控制管理。E-mail: canyi@ausnutria.com

*Corresponding author: YI Can, Master, Engineer, Ausnutria Dairy (China) Co. Ltd., Quality Management Center, Changsha 410200, China. E-mail: canyi@ausnutria.com

许添加于婴儿食品的产品^[6]。之后美国科学院医学研究所食物与营养委员会于 1998 年将其划归为必需营养素^[7]。胆碱在食品领域主要应用于在婴幼儿配方食品和孕妇妊娠期及哺乳期食品中,是婴幼儿配方食品中必须添加的一种营养物质。人体内胆碱的主要源自于自身合成和食物获取,一般不会出现胆碱缺乏,但对于婴幼儿来说,其自身合成胆碱的能力有限,特别是在母乳不足的情况下,其机体所需胆碱的来源主要是婴幼儿配方食品,故对婴幼儿配方食品中胆碱含量的监测具有重要意义。我国于 2010 年对胆碱在婴幼儿配方食品中的限量已有明确规定,详见表 1。

目前对于胆碱在食品中含量的检测研究主要集中在婴幼儿配方食品中,特殊医学配方食品偶见报导^[8,9]。检测方法主要涉及酶比色法^[10]、雷氏盐分光光度法^[11]、毛细管电泳法^[12]、生物传感器法^[13]、色谱法^[14-17](包括离子色谱法(电导检测器)、液相色谱法(荧光检测器、蒸发光散射检测器)、液相色谱质谱法(高分辨质谱、串联质谱))等。本文主要对近些年有关胆碱的检测方法进行综述,并对可开发的检测方法进行了展望,以期开发出适用范围更广、灵敏度更高的胆碱检测方法提供参考依据,便于今后更好地开展检测方法的研究和应用。

表 1 国家标准关于婴幼儿食品中胆碱的限量规定
Table 1 National standard on the limit of choline in infant food

标准	适用年龄	最小值	最大值
GB 10765-2010 食品安全国家标准 婴儿配方食品 ^[18]	婴儿(0-12 月龄)	1.7 mg/100 kJ	12.0 mg/100 kJ
GB 10767-2010 食品安全国家标准 较大婴儿和幼儿配方食品 ^[19]	较大婴儿和幼儿 (6-12 月龄)	1.7 mg/100 kJ	12.0 mg/100 kJ
GB 14880-2012 食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准 ^[20]	儿童	800 mg/kg	1500 mg/kg

2 胆碱概述

2.1 胆碱的理化性质

胆碱(2-羟基-N,N,N-三甲基乙铵, Choline), 一种带正电荷的四价碱基, 是季胺盐类, 属于强有机碱, 其化学式为 $(CH_3)_3N^+(CH_2)_2OH$, 结构式见图 1, 其分子量为 104.17。胆碱在常温条件下为粘性液体或结晶体, 吸湿性较强, 在水和乙醇中溶解度较高, 不溶于氯仿、乙醚等非极性溶剂。胆碱对酸碱均不稳定, 易与酸反应生成稳定性更好的结晶盐, 如氯化胆碱、胆碱酒石酸氢盐, 但是胆碱耐热耐储存, 其含量不因长时储存而发生明显变化^[21]。人们习惯上将胆碱归为水溶性 B 族维生素, 但其不以辅酶或酶的形式参与机体代谢, 且其需要量是其他 B 族维生素的 10 倍至 100 倍^[22]。

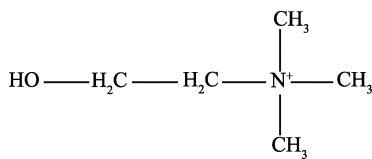


图 1 胆碱的结构式
Fig.1 Structural of choline

2.2 胆碱的来源

人体内胆碱的来源主要通过 2 个方式, (1)机体自身合成, (2)从食物中获取。人体内胆碱的合成是磷脂酰乙醇胺 phosphatidylethanolamine, PE)在磷脂酰乙醇胺-N-甲基转移酶(phosphatidylethanolamine N-methyltransferase, PEMT)的催化

作用下, 由 S-腺苷蛋氨酸提供甲基, 连续甲基化而来^[21]。PEMT 主要存在于肝脏中, 若该酶缺乏或活性不高, 则胆碱合成受阻, 此时则需从天然食材或配方食品中摄取胆碱。天然食材中如水果、蔬菜、肉类、蛋黄、牛奶等动植物食品中均含有丰富的胆碱资源^[23]。而配方食品如婴幼儿配方乳粉、孕产妇配方营养食品及特殊医学配方食品中的胆碱通常以氯化胆碱的形式添加, 可满足不同人员的需求。

2.3 胆碱的生产工艺

食品中的胆碱通常以氯化胆碱的形式添加, 氯化胆碱的生产方法根据原料的不同可分为环氧乙烷法和氯乙醇法^[24]。环氧乙烷法包括连续法和分步法 2 种。连续法原理: 将一定配比的环氧乙烷与三甲胺的盐酸盐不断加入反应设备, 于 50 °C 下反应 60~90 min, 并以一定速率取出生成物, 使反应容器内的液面保持稳定状态, 反应得以连续进行; 分步法合成原理: 三甲胺与盐酸先行反应, 然后在反应液中通入环氧乙烷; 反应完全后以有机酸中和, 浓缩得到氯化胆碱。而氯乙醇法是 2-氯乙醇与三甲胺在催化剂作用下进行反应得到氯化胆碱^[25]。环氧乙烷法生产氯化胆碱具备高效率、高活性、高收率等优点, 但是对运输、储存、设备及操作的要求较高, 且因催化剂的存在对纯品的获取不利。而氯乙醇法工艺简单, 对设备、原料要求较低, 是研究人员及生产商更青睐的方法。

3 检测方法

3.1 酶比色法

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》^[26]中第一法即酶比色法。在该法中,胆碱经盐酸水解后呈游离态,再经酶氧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,该法检测限和定量限分别为 1 mg/100 g 和 3 mg/100 g。1993 年 Maeda 使用酶法测定了牛奶中的胆碱含量,样品在 100 °C 下经盐酸水解后以等量的氢氧化钠中和,并在水解反应中加入过氧化氢酶,显色后于分光光度计下测定其吸光度^[27]。Woollard 等^[11]采用耦合酶-分光光度法对婴幼儿配方奶粉中的胆碱含量进行了测定,在该法中,胆碱经酸水解-磷脂酶混合释放后,在过氧化氢酶和苯酚存在下与胆碱氧化酶一起反应,生成带有 4-氨基安替比林的醌亚胺生色团。黄高琳^[28]对乳粉中的胆碱含量进行了检测,并提出前处理中的几个关键点:充分涡旋溶解、严格控制水解温度、注意胆碱氧化酶的取样环境、调节 pH 时应避免超出范围、发色剂现配现用。柯燕娜等^[9]用该法测定特殊医学用途婴儿配方食品中的胆碱含量,并用质控样进行准确性比对,结果显示质控样理论值为 171.5 mg/100 g,测定值为 168.4 mg/100 g,乳粉样品和质控样的加标回收率为 96.1%~98.4%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 1.43%。张琳等^[29]认为现有国标中的酶比色法专属性较强,但是缺少对水解液的净化处理,其样品中的核黄素等发色物质,经水解后颜色加深,容易造成样品背景值增高;此外样品中含有的维生素 C 等还原性物质,会影响酶的氧化反应,容易造成胆碱测定值偏低,因此通过添加活性炭对酶比色法进行了改良,使得测定结果更加准确、可行、高效。

酶比色法具备重复性好、操作简单、对试验人员安全等优点,是国内实验室采用较多的一种方法,但该法针对性较强,易受背景值影响,检出限高且酶价格较高,对于大批量的样品检测达不到经济实惠的目的。酶比色法测定样品中胆碱含量在国内主要是应用于婴幼儿乳粉的检测,在其他领域的研究报道较少见,但在国外此类的研究报导还见于饲料、医学等领域^[30,31]。

3.2 雷氏盐法

GB 5413.20-2013^[26]中的第二法是雷氏盐分光光度法,该法利用胆碱在氢氧化钡-甲醇-氯仿^[10]或氢氧化钡-甲醇-三氯甲烷^[9]的作用下水解,与雷纳克铵盐溶液形成粉红色的胆碱雷纳克铵盐,经洗脱后通过紫外分光光度计测定其吸光度并进行定量分析。尹凤芝等^[32]用该法分析了婴幼儿食品和乳品中的胆碱,结果表明其标线性及重现性良好,平均回收率达 98.86%。刘雯雯^[33]对比了酶比色法和雷氏盐分光光度法测定婴幼儿乳粉中的胆碱,结果表明二者测试结果相近,但相较而言,雷氏盐分光光度法前处理较复杂,检测批量小,耗时更长,但无需特殊仪器设备与试剂,成本较低。

雷氏盐法具有对设备要求不高,成本低廉的优点,但该法样品前处理繁杂且耗时长、样品易损失、重复性差。故而雷氏盐法测定样品中胆碱含量在国外的应用研究不多,该法在国内的应用主要体现在婴幼儿配方乳粉中胆碱的检测和饲料中氯化胆碱的检测^[34]。

3.3 毛细管电泳法

胆碱为脂肪基季铵盐,无显色官能团,因其在酸性溶液中带正电,可用非常适合带电物质分析的毛细管区带电泳(capillary zone electrophoresis CZE)分离模式,间接紫外法进行测定。Zhang 等^[12]对比了不同 pH 的毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)对植物叶片中的游离胆碱的检测效果,结果表明,在 pH<4 时,电泳图中的各个峰之间能够得到有效分离。Carter 等^[35]用毛细管电泳-间接紫外检测法测定了婴幼儿配方食品中的胆碱含量,使用 0.1 mmol/L 盐酸调节背景电解质 pH 值,这种电解质不具备缓冲能力,导致重现性不好,只能用内标法定量,对于样品分析会略显繁琐。丁晓静等^[36]对整个缓冲体系进行了优化,使其前处理精简,分析成本降低,但灵敏度不高。Inoue 等^[37]使用乙酰胆碱酯酶(acetyl cholinesterase, AChE)和胆碱氧化酶(choline oxidase, ChOx)对电极进行修饰,通过毛细管电泳分离后,使用间接安培法测定胆碱含量,其操作稳定性大大提升,实用性增加。

毛细管电泳法具有几乎不使用有机溶剂对实验人员安全且检测成本较低的优点,但其检出限较高,灵敏度低。该法在国内应用于胆碱检测的研究相对较少,但在国外研究中,除了在婴幼儿配方食品外,在医学方面也有学者发表相关文献^[38,39]。

3.4 生物传感器法

生物传感器是一种对生物物质敏感并将其浓度转换为电信号进行检测的仪器,由固定化的生物敏感材料如酶、微生物等作识别元件,以氧电极、光敏管、场效应管、压电晶体等作为理化换能器及信号放大装置构成的分析工具或系统。Pati 等^[13]研究流动注射分析和固定化胆碱氧化酶安培生物传感器来检测牛奶,奶粉和大豆卵磷脂水解物中的胆碱,结果显示其检测限为 0.1 μmol/L,相对标准偏差为 1.7%~4.2%。Pal 等^[40]开发了一种可将胆碱氧化酶和过氧化物酶共同固定在氧化锌纳米棒膜(ZnO nanorod array films, ZnONR)上,从而达到可重复使用的新型化学发光胆碱纳米生物传感器,对牛奶样品中胆碱检测的回收率达 99%,且 30 天重复使用 60 次仍有效。Panfili 等^[41]通过耦合微波水解和基于 O₂/胆碱氧化酶电化学生物传感器的方法快速测定食品中的胆碱,该法选择性较强,相较同类方法大大减少了分析时间。另有 Shimomura 等^[42]通过在孔径为 12 nm 的杂化介孔膜(F127M)中使用固定化酶即 ChOx 成功制备了胆碱传感器。Qin 等^[43]开发了一种基于 ChOx,

多壁碳纳米管(carbon nanotube, multi-walled, MWCNT), 金纳米颗粒(gold nanoparticles, GNp)和聚二烯丙基二甲基氯化铵(Polydiallyl dimethyl ammonium chloride, PDDA)组成的纳米复合膜的新型安培胆碱生物传感器。随着学者们研究的深入, 各种测定胆碱的生物传感器被研制出来, 但该法的检测技术与设备并未广泛应用, 不适于批量食品样品的分析检测。

生物传感器法具备可重复使用, 专一性好, 干扰小, 检测迅速等优点。其缺点就是前期实验性较高。研究表明, 国内外对于该法在胆碱检测中的应用多集中在基于不同组成材料的生物传感器的制备及其检测能力验证^[40-43]。并不适合实验室的样品批量检测, 目前在婴幼儿配方食品中胆碱的检测应用相对较少。

3.5 离子色谱法

胆碱是碱性强度与氢氧化钠相似的一种含氮的有机碱性化合物, 在水溶液中可以完全电离, 因此可以采用离子色谱法测定其含量^[44]。该法目前在国内的研究相对较多, 李媛媛等^[45-47]采用该法对婴幼儿乳粉中的胆碱含量进行检测分析, 其检出限分别为 0.1 mg/kg, 0.1 mg/L, 2 mg/kg; 回收率范围分别为 95.0%~105.0%, 95.0%~102.5%, 88.7%~102.5%。贾宏新等^[48]实现了用该法对食品中的 4 种矿物元素 Na、K、Mg、Ca 和胆碱同时进行检测。黄丽等^[49]采用在线渗析技术联合离子色谱法检测奶粉中胆碱含量, 该方法准确、快速、简便、重现性好、自动化高。魏丹等^[50]通过超声辅助分散液液微萃取、富集食用油中酸性水解后的胆碱离子, 采用在线柱切换离子色谱法净化、测定食用油中胆碱的含量, 不同油中的检出限范围在 1.58~1.99 $\mu\text{g/L}$ 之间, 大大提高了检测灵敏度, 但前处理略显复杂。

离子色谱法具备操作简单、快捷、灵敏度高、选择性良好, 检测时间短等优点, 但因其检测器为通用型检测器, 专一性稍差。离子色谱作为各实验室中较为普遍的一种仪器, 可同时测定样品中多个检测项目, 除在婴幼儿食品领域外, 国内外对于该法在胆碱的检测应用多见报道^[51-53]。

3.6 液相色谱法

张玉等^[15]通过超高效液相色谱-荧光法测定乳粉中胆碱含量, 该法是利用胆碱经盐酸水解后, 取其滤液与 1-萘基异氰酸酯进行衍生化反应, 生成能够被荧光检测器检测到的胆碱衍生物, 通过超高压液相色谱快速分离, 结果表明, 胆碱浓度(以胆碱阳离子计)在 0.90~13.5 $\mu\text{g/mL}$ 时线性关系良好, 回收率为 89.0%~92.5%, 仪器的检出限为 0.052 $\mu\text{g/mL}$ 。该法能有效消除复杂体系的干扰, 灵敏度高, 但需进行衍生化处理。李媛媛等^[54]建立了高效液相色谱-蒸发光散射检测器方法, 平均回收率为 97.7%~100.8%, 检出限为 20 mg/L, 该法样品前处理操作简便, 重现性好。

液相色谱法具备灵敏度高, 检测结果准确性好等优势,

但其中部分方法可能需进行衍生化, 使得前处理过程复杂化, 不易操作, 重复性较低。研究表明, 液相色谱测定胆碱含量方法除在婴幼儿食品中的应用外, 该法在国内外的医药、保健品及医学研究等方面的应用也相对广泛^[55-58]。

3.7 液相色谱质谱法

液相色谱质谱法的检测器特异性好, 可以准确地对目标化合物进行定量和定性, 尤其是串联四级杆质谱在多反应监测的条件下灵敏度更高, 同时, 液相色谱质谱法检测胆碱的样品前处理简单, 取样量少, 准确性强, 可同其他项目同时进行开发检测, 并且液相色谱质谱法目前较为普及, 适合于方法的推广^[16,17]。高进等^[8]建立了高效液相色谱-高分辨质谱-同位素内标法测定乳粉中胆碱的含量, 该法在 0.5~10 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好, 相关系数为 0.9998。回收率范围为 91.4%~99.7%, 相对标准偏差为 1.0%~3.2%, 检出限为 0.2 mg/100 g。Ellingson 等^[59]开发了液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿及成人儿童乳粉中的游离和总胆碱、游离和总肉碱含量的 AOAC 方法。黄金凤等^[60,61]用高效液相色谱-三重四级杆质谱仪对婴幼儿乳粉中胆碱、左旋肉碱、牛磺酸及肌醇中的 2 种或全部同时进行检测, 经优化后胆碱检出限低至 0.003 mg/kg, 灵敏度极高。李丽萍^[62,63]等采用超高效液相色谱-串联质谱法对乳粉、人乳和特殊医学配方食品中的胆碱含量检测, 检出限均低于 1.0 mg/kg。

液相色谱质谱法测定婴幼儿配方食品中胆碱含量具有前处理简单、灵敏度高、重复性好的优点, 并可同其他化合物同时测定; 其缺点是该设备可能比较昂贵, 部分实验室暂时还不具备该设备。但是随着国家标准的发展趋势, 未来该设备可能是各实验室的必备仪器。相关研究表明, 该法除了在婴幼儿配方食品中的检测应用十分广泛, 在其他医药、保健品等方面的国内外研究也颇多^[64-67]。

3.8 其他

婴幼儿配方食品中胆碱的测定方法除了上述常用的方法外, 还有学者研究了其他方法。胆碱的传统检测方法还有高氯酸非水滴定法^[68]、雷氏盐质量法^[69]等, 现今这两种方法基本不用于食品检测。此外, 1984 年 Saucerman 研究了一种采用气相顶空技术测定成人和婴儿配方食品游离态和结合态胆碱的简单快速方法。该法是将样品在 120 $^{\circ}\text{C}$ 的碱性条件下加热 24 h, 在这过程中胆碱会发生霍夫曼分解反应, 产生挥发性三甲胺(trimethylamine, TMA), 并在液相和气相之间达到平衡(顶部空间)后, 取 50 μL 顶空气体进样, 以火焰离子检测器检测三甲胺^[70]。Lied 等^[71]使用芥菜神经孢菌 cholineless-1 作为测试生物开发了一种微生物八点平行线测定法, 用于测定胆碱。以上方法均在早期研究中建立, 方法的灵敏度、准确性不高, 对于批量样品的检测并不适用。柴鑫等^[72]采用 ^1H - ^{14}N SOFAST-HMQC 技术对乳制品中的胆碱及其衍生物进行了快速核磁共振(nuclear magnetic

resonance, NMR)检测, 并与常规 NMR 技术检测的 $1D^1H$ NMR 谱检测进行了对比, 结果表明该法具备更高的选择性和灵敏度。但是该法只能根据信号强度表明胆碱含量高低, 无法进行定量分析, 不适用于日常检测。

4 结论

婴幼儿配方食品中胆碱的检测涉及的样品以婴幼儿乳粉居多, 特殊医学配方食品、人乳偶见报道。胆碱的检测方法各有优劣势, 其中, 酶比色法检出限较高, 且酶针对性较强, 价格偏高, 不适合大批量样品的检测。雷氏盐法成本较低, 但缺少选择性, 干扰因素较多, 灵敏度偏低。毛细管电泳法、固定化酶生物传感器法这种技术还不太成熟, 不便于推广。离子色谱的电导检测器为通用型检测器, 易受杂质干扰, 和电化学检测器交换使用时, 仪器维护时间较长。液相色谱-示差折光检测器、液相色谱-蒸发光散射检测器技术检出限较低, 但部分需要衍生化, 过程繁琐, 不易操作。

液相色谱质谱法由于无需进行衍生化, 从而降低了操作的繁琐程度, 且灵敏度高, 各检测化合物之间的相互干扰及受杂质的干扰较小, 适用于胆碱及其他多重营养物质的同时检测。目前各学者对液相色谱串联质谱法测定不同基质中的胆碱及其他营养物质时所采用的净化手段较单一, 多采用简单去除蛋白质的操作方式, 甚至仅采用 $0.45\ \mu m$ 或 $0.22\ \mu m$ 滤膜过滤即上机检测, 导致待测液中的杂质较多, 会对色谱柱和离子源造成一定的污染。因此固相萃取-液相色谱质谱用于检测婴幼儿配方食品或其他基质中的胆碱含量值得深入研究。同时液相色谱质谱法检测不同领域样品基质中的胆碱也必将成为将来胆碱检测的优选方法。

参考文献

- [1] 孙公文, 王作洲. 胆碱的生物功能及科学禁忌[J]. 中国动物保健, 2008, (111): 79–82.
Sun GW, Wang ZZ. Biological function and scientific taboo of Choline [J]. Chin Anim Heal, 2008, (111): 79–82.
- [2] Razola SS, Pochet S, Grosfils K, *et al.* Amperometric determination of choline released from rat Submandibular gland acinar cells using a choline oxidase biosensor [J]. Biosens Bioelectron, 2003, 18: 185–191.
- [3] Buchman AL, Ament ME, Jenden DJ, *et al.* Choline deficiency during parenteral nutrition in humans [J]. Nutr Clin Pract, 2003, 18(5): 353–358.
- [4] 胡小中. 磷脂酰胆碱的生理功能和作用机理[J]. 粮油食品科技, 2011, 19(4): 42–44.
Hu XZ. Physiological function of phosphatidylcholine and its possible mechanism of action [J]. Sci Technol Cere, Oils Foods, 2011, 19(4): 42–44.
- [5] 徐亚麦, 赵泽民, 褚晓波. 浅析婴幼儿奶粉中胆碱含量的测定要点[J]. 中国乳业, 2015, 3(3): 65–66.
Xu YM, Zhao ZM, Chu XB. Analysis of the main points of determination of choline content in infant milk powder [J]. Chin Dairy, 2015, 3(3): 65–66.
- [6] 鲍雷, 蔡夏夏, 李勇. 胆碱与婴幼儿大脑发育[J]. 中国生育健康杂志, 2014, 25(4): 379–382.
Bao L, Cai XX, Li Y. Choline and infant brain development [J]. Chin J Reprod Heal, 2014, 25(4): 379–382.
- [7] Zeisel SH, Da CK. Choline: An essential nutrient for public health [J]. Nutr Rev, 2009, 67: 651–623.
- [8] 高进, 赵静, 唐澈, 等. 高效液相色谱-高分辨质谱-同位素内标法测定乳粉中的胆碱[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(20): 5370–5375.
Gao J, Zhao J, Tang C, *et al.* Determination of choline in milk powder by high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry-isotope internal standard method [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(20): 5370–5375.
- [9] 柯燕娜, 张玉柱, 鲍笑岭, 等. 酶比色法测定特殊医学用途婴儿配方食品中的胆碱含量[J]. 乳业科学与技术, 2020, 43(1): 15–18.
Ke YN, Zhang YZ, Bao XL, *et al.* Determination of choline in infant formula for special medical purposes by enzyme colorimetry [J]. J Dairy Sci Technol, 2020, 43(1): 15–18.
- [10] 赵红霞, 郝万清. 雷氏盐比色法检测婴幼儿配方乳粉中胆碱含量[J]. 乳业科学与技术, 2012, 35(2): 41–43.
Zao HX, Hao WQ. Determination of choline in formula milk powder for infants and young children [J]. J Dairy Sci Technol, 2012, 35(2): 41–43.
- [11] Woollard DC, Indyk HE. Determination of choline in milk and infant formulas by enzymatic analysis: Collaborative study [J]. J AoAC Int, 2000, 83: 131–138.
- [12] Zhang J, Okubo A, Yamazaki S. Measurement of free choline in plant leaves by capillary electrophoresis [J]. Biosci Biotech Biochem, 2001, 65(11): 2573–2576.
- [13] Pati S, Qunito M, Palmisano F, *et al.* Determination of choline in milk, milk powder, and soy lecithin hydrolysates by flow injection analysis and amperometric detection with a choline oxidase based biosensor [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 4638–4642.
- [14] 顾秀英, 欧菊芳, 杨琳, 等. 离子色谱法测定奶粉中胆碱质量分数[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(7): 47–49.
Gu XY, Ou JF, Yang L, *et al.* Determination of choline in formula sample by ion chromatography [J]. Chin Dairy Ind, 2011, 39(7): 47–49.
- [15] 张玉, 汪庆旗, 梁晶晶, 等. 超高效液相色谱-荧光法测定婴幼儿乳粉中胆碱含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(2): 169–171.
Zhang Y, Wang QQ, Liang JJ, *et al.* Determination of choline in infant milk powder by ultra-high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Chin J Health Insp, 2017, 27(2): 169–171.
- [16] 黄焘, 陶保华, 陈启, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定人乳中的胆碱、L-肉碱、乙酰基-L-肉碱和牛磺酸[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(7): 2059–2065.
Huang T, Tao BH, Chen Q, *et al.* Determination of choline, L-carnitine, acetyl-L-carnitine and taurine in human milk using UPLC-MS/MS [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(7): 2059–2065.
- [17] 李秀英, 黄嘉乐, 邱志超, 等. 微波水解/超高效液相色谱-串联质谱法快速测定乳粉中的胆碱和左旋肉碱[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(5): 1876–1881.
Li XY, Huang JL, Qiu ZC, *et al.* Rapid determination of choline and L-carnitine in milk powder by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry using microwave digestion for sample preparation [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(5): 1876–1881.

- [18] GB 10765-2010 食品安全国家标准 婴儿配方食品[S].
GB 10765-2010 National food safety standard-Infant formula [S].
- [19] GB 10767-2010 食品安全国家标准 较大婴儿和幼儿配方食品[S].
GB 10767-2010 National food safety standard-Older infants and young children formula [S].
- [20] GB 14880-2012 食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准[S].
GB 14880-2012 National food safety standard-Food nutrition enhancer standard [S].
- [21] 刘敏, 齐继红, 汪之頔. 胆碱营养研究进展[J]. 国外医学: 卫生学分册, 2007, 34(4): 254-256.
Liu M, Qi JH, Wang ZX. Research progress of choline nutrition [J]. Foreign Medl Sci(Sect Hyg), 2007, 34(4): 254-256.
- [22] 冷向军, 李小勤. 水产动物的胆碱营养[J]. 水生动物营养, 2005, (2): 44-46.
Leng XJ, Li XQ. Choline nutrition in aquatic animals [J]. Aquat Anim Nutr, 2005, (2): 44-46.
- [23] Zeisel SH, Mar MH, Howe JC, *et al.* Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods [J]. J Nutr, 2003, (5): 1302-1307.
- [24] 石波, 马书宇, 梁平. 氯化胆碱生产新工艺的研究[J]. 中国饲料, 1996, (6): 45-46.
Shi B, Ma SY, Liang P. Study on the new production process of choline chloride [J]. Chin Feed, 1996, (6): 45-46.
- [25] 毕丽媛. 盐酸生产氯化胆碱工艺研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2017.
Bi LY. Research on producing choline chloride with hydrochloric acid [D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2017.
- [26] 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[S].
GB 5413.20-2013 National food safety standard-Determination of choline in infant food and dairy products [S].
- [27] Maeda T, Okano C, Miyake A, *et al.* Determination of choline in milk and dairy products by an enzymatic method [J]. Food Hyg Saf Sci, 1993, 31(1): 32-37.
- [28] 黄高琳. 酶比色法测定奶粉中的胆碱含量[J]. 分析检测, 2018, 11(44): 136-140.
Huang GL. Determination of choline in milk powder by enzyme colorimetry [J]. Anal Test, 2018, 11(44): 136-140.
- [29] 张琳, 贾俊, 曲玉超, 等. 用改良的酶比色法测定婴幼儿乳粉中胆碱的含量[J]. 分析与检测, 2019, 27(57): 70-71.
Zhang L, Jia J, Qu YC, *et al.* Determination of choline in infant milk powder by modified enzyme colorimetry [J]. Anal Test, 2019, 27(57): 70-71.
- [30] Menten, José-Fernando M, Pesti, *et al.* The choline content of feed ingredients and mixed feeds determined by an enzymatic assay [J]. J Sci Food Agric, 1998, (78): 399-404.
- [31] Campanella L, Bonanni A, Dragone R, *et al.* Derivative enzymatic-spectrophotometric method for choline containing phospholipid determination in human serum, bile and amniotic fluid: recovery data by 'standard addition' method [J]. Microchem J, 2005, (79): 61-67.
- [32] 尹凤芝, 张慧. 婴幼儿食品和乳品中胆碱的测定-雷氏盐分光光度法点[J]. 技术与应用, 2013, 11(2): 54-57.
Yin FZ, Zhang H. Determination of choline in foods for infants and young children and milk products-Resin salt spectrophotometry [J]. Technol Appl, 2013, 11(2): 54-57.
- [33] 刘昱雯. 酶比色法和雷氏盐分光光度法在测定婴幼儿乳粉中胆碱的比较[J]. 分析检测, 2019, 15(55): 174-177.
Liu MW. Comparison of determination of choline in infant milk powder by enzyme colorimetry and ray's salt spectrophotometry [J]. Anal Test, 2019, 15(55): 174-177.
- [34] 宋荣, 常碧影. 雷氏盐重量法测定饲料级氯化胆碱[J]. 饲料广角, 2001, (23): 17-19.
Song R, Chang BY. Determination of feed grade choline chloride [J]. Feed Chin, 2001, (23): 17-19.
- [35] Carter N, Trenerry VC. The determination of choline in vitamin preparations, infant formula and selected foods by capillary zone electrophoresis with indirect ultraviolet detection [J]. Electrophoresis, 1996, 17(10): 1622-1626.
- [36] 丁晓静, 田绪, 李疆, 等. 毛细管区带电泳-间接紫外检测法测定婴儿配方奶粉中的胆碱[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(10): 2228-2303.
Ding XJ, Tian X, Li J, *et al.* Determination of choline in infant formula by capillary zone Electrophoresis with indirect ultraviolet detection [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(10): 2298-2303.
- [37] Inoue T, Kirchhoff JR, Hudson RA. Enhanced measurement stability and selectivity for choline and acetyl choline by capillary electrophoresis with electrochemical detection at a covalently linked enzyme-modified electrode [J]. Anal Chem, 2002, 74(20): 5321-5326.
- [38] Mauro F, Angelo Z, Stefano A, *et al.* An isotope dilution capillary electrophoresis/tandem mass spectrometry (CE-MS/MS) method for the simultaneous measurement of choline, betaine, and dimethylglycine concentrations in human plasma [J]. Anal Bioanal Chem, 2016, (408): 7505-7512.
- [39] Nicole C, Trenerry VC. The determination of choline in vitamin preparations, infant formula and selected foods by capillary zone electrophoresis with indirect ultraviolet detection [J]. Electrophor, 1996, (17): 1622-1626.
- [40] Pal S, Sharma MK, Danielsson B, *et al.* A miniaturized nanobiosensor for choline analysis [J]. Biosens Bioelectron, 2014, 54: 558-564.
- [41] Panfili G, Manzi P, Compagnone D, *et al.* Rapid assay of choline in foods using microwave hydrolysis and a choline biosensor [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 3403-3407.
- [42] Shimomura T, Itoh T, Sumiya T, *et al.* Amperometric determination of choline with enzyme immobilized in a hybrid mesoporous membrane [J]. Talanta, 2009, 78: 217-220.
- [43] Qin Xi, Wang HC, Wang XS, *et al.* Amperometric biosensors based on gold nanoparticles-decorated multiwalled carbon nanotubes-poly (diallyldimethylammonium chloride) biocomposite for the determination of choline [J]. Sens Actuators B, 2010, 147: 593-598.
- [44] 王璋, 许时婴, 江波, 等. 食品化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003.
Wang Z, Xiu SY, Jiang B, *et al.* Food chemistry [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2003.
- [45] 李媛媛, 薛静, 李莹倩, 等. 离子色谱法测定婴幼儿乳粉中的胆碱含量[J]. 食品科技, 2008, 33(12): 267-270.
Li YY, Xue J, Li YQ, *et al.* Analysis of choline in milk powder for infant and young children by ionchromatography [J]. Food Sci Technol, 2008, 33(12): 267-270.
- [46] 武中平, 高巍, 卢剑. 离子色谱法测定婴幼儿配方奶粉中胆碱的含量

- [J]. 乳业科学与技术, 2011, 34(5): 232–233.
- Wu ZP, Gao W, Lu J. Determination of choline in milk powder for infants and young children by ion chromatography [J]. J Dairy Sci Technol, 2011, 34(5): 232–233.
- [47] 刘美霞, 胡彩霞, 任丽, 等. 离子色谱法测定奶粉中胆碱含量方法的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(6): 1880–1884.
- Liu MX, Hu CX, Ren L, *et al.* Determination of choline in milk powder by ion chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2013, 4(6): 1880–1884.
- [48] 贾宏新, 李文杰, 何晓明. 离子色谱法同时测定食品中胆碱和4种矿物质元素的含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(5): 977–1006.
- Jia HX, Li WJ, He XM. Simultaneous determination of choline and four minerals in foods by ion chromatography [J]. Chin J Health Insp, 2009, 19(5): 977–1006.
- [49] 黄丽, 刘京平, 容晓文, 等. 在线渗析-离子色谱法直接测定奶粉中胆碱[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(3): 444–446.
- Huang L, Liu JP, Rong XW, *et al.* Direct determination of choline in milk powder for infant and young children by onlinedialysis-ion chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(3): 444–446.
- [50] 魏丹, 国明, 刘催萍, 等. 超声辅助分散液微萃取-柱切换离子色谱法测定食用油中胆碱的含量[J]. 理化检验-化学分册, 2019, 55(3): 260–265.
- Wei D, Guo M, Liu CP, *et al.* Determination of choline in edible oil by column-switching Ion chromatography coupled with ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction [J]. Phys Test Chem Anal, 2019, 55(3): 260–265.
- [51] 林立, 王海波. 离子色谱法测定全血样品中的胆碱[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(7): 1706–1708.
- Lin L, Wang HB. Determination of choline in blood by ion chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2013, 23(7): 1706–1708.
- [52] Wei D, Liu JW, Guo M, *et al.* Determination of betaine, L-carnitine and choline in human urine using a self-packed column and column-switching ion chromatography with non-suppressed conductivity detection [J]. J Sep Sci, 2017: 1–33.
- [53] Cook, SJ, Wakelam MJO. Analysis of the water-soluble products of phosphatidylcholine breakdown by ion-exchange chromatography. Bombesin and TPA (12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate) stimulate choline generation in Swiss 3T3 cells by a common mechanism [J]. Biochem J, 1989, (263): 581–587.
- [54] 李媛媛, 关树文, 王伟, 等. 高效液相色谱法测定婴幼儿配方乳粉中的胆碱[J]. 食品科技, 2009, 34(10): 263–265.
- Li YY, Guan SW, Wang W, *et al.* Analysis of choline in formula milk powder for infant and young children by HPLC [J]. Food Sci Technol, 2009, 34(10): 263–265.
- [55] Chen SH, Soneji V, Webster J. Determination of choline in pharmaceutical formulations by reversed-phase high-performance liquid chromatography and postcolumn suppression conductivity detection [J]. J Chromatogr A, 1996, 739: 351–357.
- [56] 黄晓舞, 刘俊, 徐江, 等. HPLC-电化学法测定胞磷胆碱钠注射液中游离胆碱含量[J]. 解放军药学报, 2012, 28(6): 509–526.
- Huang XW, Liu J, Xu J, *et al.* Determination of free choline in citicoline sodium injection by HPLC with electrochemical detection combined with a post-column Immobilized enzyme reactor [J]. Pharm J Chin People's Liberation Army, 2012, 28(6): 509–526.
- [57] Christopher J, Mc E, Sandy S, *et al.* Measurement of plasma free choline by high performance liquid chromatography with fluorescence detection following derivatization with 1-naphthyl isocyanate [J]. Anal Chim Acta, 2009, 644: 90–94.
- [58] 那海秋, 董宇, 周兆梅, 等. 高效液相色谱法测定大豆磷脂类保健食品中磷脂酰胆碱[J]. 理化检验-化学分册, 2013, 49(6): 728–730.
- Na HQ, Dong Y, Zhou ZM, *et al.* HPLC Determination of phosphatidylcholine health-care food of soybean phospholipid [J]. Phys Test Chem Anal, 2013, 49(6): 728–730.
- [59] Ellingson DJ, Shippar JJ, Gilmore JM. Determination of free and total choline and carnitine in infant formula and adult/pediatric nutritional formula by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS): Single-laboratory validation, first action 2015.10 [J]. J AOAC Int, 2016, 99(1): 204–209.
- [60] 黄金凤, 寻知庆, 汪晨霞, 等. HPLC-MS/MS 法测定婴幼儿配方乳粉中胆碱、左旋肉碱、牛磺酸与肌醇[J]. 分析测试学报, 2018, 37(6): 702–707.
- Hang JF, Xun ZQ, Wang CX, *et al.* Simultaneous determination of choline, L-carnitine, taurine and inositol in infant formula milk powder by HPLC-MS/MS [J]. J Instrum Anal, 2018, 37(6): 702–707.
- [61] 唐吉旺, 袁列江, 肖泳, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定婴幼儿配方乳粉中胆碱和左旋肉碱的含量[J]. 理化检测-化学分册, 2019, 55(6): 621–626.
- Tang JW, Yuan LJ, Xiao Y, *et al.* Simultaneous determination of choline and L-carnitine in infant formula milk powder by hydrophilic interaction high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Phys Test Chem Anal, 2019, 55(6): 621–626.
- [62] 李丽萍, 赵榕, 范赛, 等. 超滤管净化/超高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿配方奶粉中胆碱、肉碱和牛磺酸[J]. 卫生研究, 2019, 48(6): 988–992.
- Li LP, Zhao R, Fan S, *et al.* Determination of L-carnitine, choline, taurine in infant formula milk powder by ultrafiltration tube cleaning and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Hyg Res, 2019, 48(6): 988–992.
- [63] 潘拾朝, 黎小兰, 陈宏璧. 超高效液相色谱-串联质谱法测定特殊医学用途配方食品中胆碱含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7412–7417.
- Pan SC, Li XL, Chen HB. Determination of choline in food for special medical purpose by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(21): 7412–7417.
- [64] Liu J, Zhao MM, Zhou JT, *et al.* Simultaneous targeted analysis of trimethylamine-N-oxide, choline, betaine, and carnitine by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2016, 1: 42–48.
- [65] Griffith CA, Owen LJ, Body R, *et al.* Development of a method to measure plasma and whole blood choline by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Ann Clin Biochem, 2016, 47: 56–61.
- [66] Richard D, David J, Burinsky. Detection of choline and acetylcholine in a pharmaceutical preparation using high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry [J]. J Pharm

- Biomed Anal, 2003, 31: 905–915.
- [67] 王斌, 陈意光, 温少楷, 等. 保健胶囊中磷脂酰胆碱的 UPLC 检测及质谱确证[J]. 现代食品科技, 2015, 31(7): 336–341.
- Wang B, Cheng YG, Wen SK, *et al.* Phosphatidylcholine in health supplement capsules detected by ultra-performance liquid chromatography and verified by mass spectrometry [J]. Mod Food Sci Technol, 2015, 31(7): 336–341.
- [68] 常碧影, 郭吉原, 宋荣. 氯化胆碱市场的掺假新动向及应对措施[J]. 饲料广角, 2002, 16: 3–4.
- Chang BY, Guo JY, Song R. New adulteration trend of choline chloride market and countermeasures [J]. Feed Chin, 2002, 16: 3–4.
- [69] 宋荣, 常碧影. 雷氏盐质量法测定饲料级氯化胆碱[J]. 饲料广角, 2001, 23: 17–19.
- Song R, Chang BY. Determination of feed grade choline chloride by reed's salt quality method [J]. Feed Chin, 2001, 23: 17–19.
- [70] Saucerman JR, Winstead CE, Jones TM. Quantitative gas chromatographic headspace determination of choline in adult and infant formula products [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1984, 67(5): 982–986.
- [71] Lied E, Braekkan OR. Determination of total choline in biological materials [J]. Int J Vitam Nutr Res, 1975, 45(4): 438–447.
- [72] 柴鑫, 孙鹏, 袁斌, 等. 乳制品中胆碱及其衍生物的快速核磁共振检测[J]. 波谱学杂志, 2018, 35(2): 178–626.
- Chai X, Sun P, Yuan B, *et al.* Fast detection of choline containing compounds in dairy products using NMR [J]. Chin J Magn Reson, 2018, 35(2): 178–626.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



刘金梅, 硕士, 主要研究方向为食品安全与检测。

E-mail: jinmei.liu@ausnutria.com

易 灿, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全和质量控制管理。

E-mail: canyi@ausnutria.com

“食源性致病微生物”专题征稿函

食源性疾病是指通过摄食而进入人体的有毒有害物质(包括生物性病原体)等致病因子所造成的疾病。近年来, 由食源性致病微生物污染食物导致中毒或死亡事件在全球频发, 食源性致病微生物引起的疾病已成为危害人类健康的头号杀手。食源性疾病的发病率居各类疾病发病率的前列, 是当前世界上最突出的公共健康问题。

鉴于此, 本刊特策划“食源性致病微生物”专题, 由上海理工大学董庆利教授担任专题主编, 主要围绕食源性致病微生物新型快速检测技术、食源性致病微生物的分离与检测、食源性致病微生物的毒力与耐药性、食源性致病微生物风险评估、食源性致病微生物的监测与风险控制等展开论述和研究。本专题计划在 2020 年 12 月正刊出版(学报为中国科技核心, 2019 年知网影响因子 1.201)。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 主编吴永宁技术总师及专题主编董庆利教授特别邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。请在 2020 年 10 月 10 日前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com(注明“食源性致病微生物”专题)

E-mail: jfoodsq@126.com(注明“食源性致病微生物”专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部