

ICS  
C



# 中华人民共和国食品安全国家标准

GB ××××—××××

---

## 婴幼儿食品和乳品中左旋肉碱的测定

Determination of L-carnitine in foods for infants and young children,

raw milk and dairy products

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中华人民共和国卫生部 发布

## 前 言

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

# 婴幼儿食品和乳品中左旋肉碱的测定

## 1 范围

本标准规定了婴幼儿食品和乳品中左旋肉碱的测定方法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品中左旋肉碱的测定。

本标准检出限为 2.0mg/100g。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 原理

试样经过水提取，用高氯酸沉淀蛋白质后过滤。滤液经碱皂化后使溶液中复合态的左旋肉碱游离出来。左旋肉碱与乙酰辅酶A在肉碱乙酰转移酶的催化下反应生成乙酰肉碱和游离的辅酶A。游离的辅酶A和 2-硝基苯甲酸反应生成黄色物质，其颜色深浅与游离的辅酶A含量成正比。因游离的辅酶A与左旋肉碱是等摩尔反应关系，可间接求出试样中左旋肉碱含量。

## 4 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T6682 规定的三级水。

4.1 13%高氯酸溶液：13mL 高氯酸稀释至 100mL。

4.2 1.0 mol/L 氢氧化钠溶液：称取 4.0g 氢氧化钠用水溶解，冷却至室温后定容至 100mL 容量瓶中。

4.3 4.0mol/L 氢氧化钾溶液：称取 22.4g 氢氧化钾，用水溶解，冷却至室温后定容至 100mL 容量瓶中。

4.4 显色储备液：分别称取 50mg 2-硝基苯甲酸、5.96g N-2-羟乙基哌嗪-N-2-乙烷磺酸、185mg 二水合乙二胺四乙酸二钠（EDTA 二钠盐）溶于 30mL 去离子水中，用 1.0mol/L NaOH（4.2）调 PH 至 7.4~7.6，然后用水稀释至 50mL。此液置于 4℃ 冰箱中可保存 3 个月。

4.5 显色液：吸取 5.0mL 显色储备液（4.4）用水稀释至 25mL。

4.6 乙酰辅酶 A (Acetyl CoA) 溶液（12mmol/L）：称取 20.0mg 乙酰辅酶 A 溶于 2.0mL 水中（现用现配）。

4.7 肉碱乙酰转移酶(80U/mg; CAT)溶液：100 $\mu$ L CAT 悬浮液，用 1500rpm 离心 10min，弃去上层清液，沉淀用 2mL 水溶解（现用现配）。

#### 4.8 左旋肉碱标准溶液

4.8.1 左旋肉碱标准储备液：称取 8.0mg 于干燥器中干燥 2h 以上的左旋肉碱，溶于水中，并定容至 100mL 容量瓶中。此液置于 4℃ 冰箱中可保存 1 个月。

4.8.2 左旋肉碱标准工作液：分别吸取左旋肉碱标准储备液（4.8.1）0.5, 1, 2, 3, 5mL 于 25mL 容量瓶中，用水定容至刻度，混匀。此溶液仅限于当天使用。

### 5 仪器和设备

5.1 分析天平：感量 0.1mg。

5.2 pH 计：精度 0.01pH。

5.3 分光光度计。

### 6 分析步骤

#### 6.1 试样处理

称取 5g 混合均匀的试样（精确至 0.1mg）于三角瓶中，用 30mL 40℃ 温水溶解，冷却后转入 100mL 容量瓶中。加入 10mL 13% 高氯酸(4.1)，混合均匀后静止 20min。用蒸馏水定容至刻度，混匀，用定量滤纸过滤。

取滤液 20mL，用 4mol/L KOH(4.3) 溶液调 PH 为 12.5~13.0 后，置于 40℃ 水浴 60min。冷却后用 13% 高氯酸(4.1) 将 pH 调为 7.0~7.5。将样液转入 50mL 容量瓶中，用蒸馏水定容。混匀后置于 4℃ 冰箱中过夜。将试样处理液从冰箱中取出放置至室温，取上清液用 0.45 $\mu$ m 滤膜过滤后备用。

6.2 标准曲线的绘制：将分光光度计的波长调为 412nm。取左旋肉碱标准工作液

(4.8.2) 2.0mL 于 1cm 比色皿中，加入 0.8mL 显色液（4.5）和 0.1mL 乙酰辅酶 A（4.6）溶液，混合均匀后放入分光光度计中，5min 后校零。迅速加入 0.1mL 肉碱乙酰转移酶溶液(4.7)，混合均匀后放入分光光度计中，反应 10min 后记录吸光值。以左旋肉碱标准工作液的浓度和吸光值制作标准曲线。

6.3 试样测定：取 2.0mL 试样处理液按 6.2 的步骤测定其吸光值。在标准曲线上查得试样待测液的浓度。

## 7 结果计算和表示

试样中的左旋肉碱的含量  $X$ ，以质量分数 mg/100g 表示，按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times 50}{m \times 20 \times 10} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

式中：

$X$  ——样品中左旋肉碱含量，mg/100 g；

$C$ ——由标准曲线上查得的试样处理液浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

$m$ ——试样的质量,g。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留小数点后两位。

## 8 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应超过算术平均值的 10%。