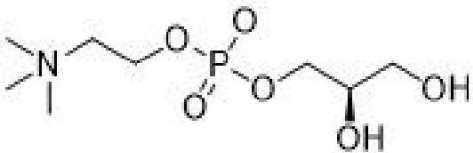


附件 1:

中文名称	L-α-甘磷酸胆碱
英文名称	L-alpha-Glycerolphosphorylcholine
基本信息	结构式:  CAS 号: 28319-77-9 分子式: C₈H₂₀NO₆P 相对分子质量: 257.22
生产工艺简述	以多聚磷酸、氯化胆碱、R-3-氯-1,2-丙二醇、氢氧化钠和水为原料, 经缩合和酯化反应后, 再经脱色、除杂、浓缩、精制、干燥等工艺制成。
推荐食用量	≤600 毫克/天 (以干基计)
其他需要说明的情况	1. 婴幼儿、孕妇和哺乳期妇女不宜食用, 标签、说明书应当标注不适宜人群和食用限量。 2. 质量规格和食品安全指标见附录。

附录

1. 感官要求

感官要求应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	要求	检测方法
色泽	白色	取适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘或烧杯中，在自然光线下，观察其色泽和状态，嗅其气味，品其滋味。
滋味	具有甜味	
气味	无异臭味	
状态	结晶或结晶性粉末，有吸湿性	

2. 理化指标

理化指标应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项目	指标	检验方法
L-α-甘磷酸胆碱(以干基计), g/100 g	98.0-102.0	附录 A
pH 值	5.0-7.0	GB 5009.237
水分, g/100 g	≤ 1.0	GB 5009.3
胆碱, mg/100 g	≤ 100	GB 5413.20
β-甘磷酸胆碱, g/100 g	不得检出	附录 B
D-α-甘磷酸胆碱, g/100 g	≤ 0.05	附录 C
氯化物(以Cl计), g/100 g	≤ 0.02	《中华人民共和国药典》四部通则0801“氯化物检查法”
磷酸盐, mg/kg	≤ 50	GB 5009.256

附录A

L- α -甘氨酸胆碱测定方法 滴定法

A.1 原理

基于高氯酸与L- α -甘氨酸胆碱的三甲胺基团发生酸碱反应，形成中和物质L- α -甘氨酸胆碱-高氯酸盐，采用电位滴定法，通过突跃点判定滴定终点。

A.2 试剂和溶液

A.2.1 乙酸，分析纯。

A.2.2 乙酸酐，分析纯。

A.2.3 高氯酸，分析纯。

A.2.4 邻苯二甲酸氢钾，基准级。

A.2.5 0.1 mol/L高氯酸标准滴定溶液：取乙酸750 mL，加入高氯酸8.5 mL，摇匀。在室温下缓缓滴加乙酸酐23 mL，边加边摇，加完后再振摇均匀，放冷，加乙酸至1000 mL，摇匀，放置24小时，即得。

A.3 仪器和设备

A.3.1 电位滴定仪：配玻璃电极。

A.3.2 分析天平：感量 0.01 mg或0.1 mg。

A.4 分析步骤

A.4.1 标定

A.4.1.1 0.1 mol/L高氯酸标准滴定溶液标定：准确称取105℃干燥至恒重的基准级邻苯二甲酸氢钾 0.16 g（精确到 0.01 mg），加乙酸60 mL溶解。用高氯酸标准滴定溶液进行电位滴定，通过突跃点判定滴定终点，并将滴定的结

果用空白试验校正。每1 mL高氯酸滴定液（0.1 mol/L）相当于20.42 mg的邻苯二甲酸氢钾。

A. 4. 1. 2 高氯酸标准滴定溶液计算

试样中L-α-甘氨酸含量按式（1）计算：

$$c = \frac{1000 \times W}{(V - V_0) \times M} \dots\dots\dots (1)$$

c—高氯酸标准滴定溶液的标定浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

W—基准邻苯二甲酸氢钾的称取量，单位为克（g）；

V—标定中消耗 0.1 mol/L 高氯酸溶液的体积，单位为毫升（mL）；

V₀—标定中空白试验消耗 0.1 mol/L 高氯酸溶液的体积，单位为毫升（mL）；

M—邻苯二甲酸氢钾的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol）[M(KHC₈H₄O₄)=204.22]；

1000—体积单位换算系数。

A. 4. 2 样品检测

称取待测试样约 0.2 g（精确到 0.01 mg），分别加入 20 mL 乙酸与 40 mL 乙酸酐溶解，用高氯酸标准滴定溶液进行电位滴定，通过突跃点判定滴定终点，记录试样所消耗的高氯酸标准滴定溶液的体积。

A. 4. 3 空白试验

取 20 mL 乙酸与 40 mL 乙酸酐，用高氯酸标准滴定溶液进行电位滴定，通过突跃点判定滴定终点，记录空白试验所消耗的高氯酸标准滴定溶液的体积。

A.5 结果计算

试样中L-α-甘氨酸胆碱含量按式（2）计算：

$$w_1 = \frac{c \times (V_1 - V_2) \times M}{m \times (1 - w) \times 1000} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

w_1 —L-α-甘氨酸胆碱含量（以干基计），单位为克每百克（g/100 g）；

c —高氯酸标准滴定溶液的标定浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

V_1 —滴定试样溶液所消耗的高氯酸标准滴定溶液的体积，单位为毫升（mL）；

V_2 —滴定空白溶液所消耗的高氯酸标准滴定溶液的体积，单位为毫升（mL）；

M —L-α-甘氨酸胆碱的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol）[$M(C_8H_{20}N_6O_6P)=257.22$]；

m —待测试样的质量，单位为克（g）；

w —试样中的水分含量，单位为克每百克（g/100 g）；

100—试样中量以每 100 克计算的换算系数；

1000—体积单位换算系数。

A.6 精确度

试验结果以两次平行测定结果的算术平均值为准。在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 0.5%。

附录B

β -甘磷酸胆碱测定方法 液相色谱法

B.1 原理

试样中 β -甘磷酸胆碱在两性离子柱的液相色谱条件下分离，使用蒸发光检测器检测，以丝氨酸（与L- α -甘磷酸胆碱校正因子一致）为标准品，标准曲线法定量。

B.2 试剂和溶液

B.2.1 丝氨酸标准品（CAS号：56-45-1），纯度 $\geq 99\%$ 。

B.2.2 β -甘磷酸胆碱（CAS号：18418-25-2），本品为定性标准品，用于定性分析。

B.2.3 乙腈，色谱纯。

B.2.4 甲酸铵，色谱纯。

B.2.5 甲酸，色谱纯。

B.2.6 水（符合 GB/T 6682 规定的一级水）。

B.2.7 稀释液，乙腈：水=1:1（v:v）。

B.2.8 甲酸盐缓冲液配制：称取甲酸铵6.35 g于1000 mL容量瓶中，加水适量溶解后加甲酸5 mL，加水定容至刻度，摇匀备用。

B.3 仪器和设备

B.3.1 高效液相色谱仪：配备蒸发光检测器。

B.3.2 电子天平：感量 0.01 mg或0.1 mg。

B.4 分析步骤

B.4.1 参考色谱条件

- a) 色谱柱：两性离子柱，250 mm×4.6 mm，粒径5 μm；
- b) 流速：0.7 mL/min；
- c) 柱温：30℃；
- e) 进样量：30 μL；
- f) 流动相：乙腈：甲酸盐缓冲液=78:22 (v:v)，等度洗脱。

B. 4. 2 空白溶液制备

取稀释液作为空白溶液。

B. 4. 3 标准曲线溶液制备

称取丝氨酸标准品50.00 mg于50 mL容量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，得1.0 mg/mL丝氨酸标准储备液。

分别准确量取上述储备液0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、4.0 mL和6.0 mL，分别置50 mL容量瓶中，加稀释液稀释至刻度，摇匀。得到10 μg/mL、20 μg/mL、40 μg/mL、80 μg/mL和120 μg/mL的丝氨酸标准溶液。

B. 4. 4 β-甘氨酸胆碱定性溶液制备

称取β-甘氨酸胆碱约2.50 mg于5 mL容量瓶中，加稀释液使溶解，定容，作为β-甘氨酸胆碱储备液。准确量取上述储备液2.0 mL于10 mL容量瓶中，加稀释液定容至刻度，摇匀，备用。

B. 4. 5 试样溶液制备

称取试样0.2 g（精确到0.01 mg）于10 mL容量瓶中，加稀释液溶解并定容至刻度，摇匀备用。

B.5 测定

B.5.1 标准曲线的制作

在规定的色谱条件下取丝氨酸标准溶液各 30 μL，分别注入液相色谱仪，进行色谱分析，记录所得各标准溶液色谱图中丝氨酸的峰面积。以标准溶液中丝氨酸标准品峰面积的对数为 X 轴，以进样质量（单位为微克（μg））对数为 Y 轴，绘制标准曲线，得丝氨酸标准曲线，其中标准曲线的斜率为 a，标准曲线的截距为 b。

B.5.2 试样溶液的测定

在规定的色谱条件下取空白溶液、β-甘氨酸胆碱定性溶液和试样溶液各 30 μL，分别注入液相色谱仪，进行色谱分析，记录试样溶液色谱图中 β-甘氨酸胆碱的峰面积。

B.6 计算

试样中的 β-甘氨酸胆碱的含量按式（1）计算：

$$w = \frac{10 (a \times \lg A + b) \times V \times 100}{m \times v \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

w—试样中 β-甘氨酸胆碱含量，单位为克每百克（g/100g）；

a—丝氨酸标准曲线的斜率；

b—丝氨酸标准曲线的截距；

A—测得试样溶液中 β-甘氨酸胆碱的峰面积；

V—试样溶液制备时的定容体积，单位为毫升（mL）；

v —进样量，单位为微升 (μL)；

m —待测试样的称样量，单位为克 (g)；

100—试样中量以每 100 克计算的换算系数；

1000—质量单位换算系数。

B.7 精确度

试验结果以两次平行测定结果的算术平均值为准。

在重复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 20%。

B.8 检出限和定量限

当取样量为 0.2 g 时，本方法检出限为 0.025 g/100 g，定量限为 0.05 g/100 g。

B.9 液相色谱图

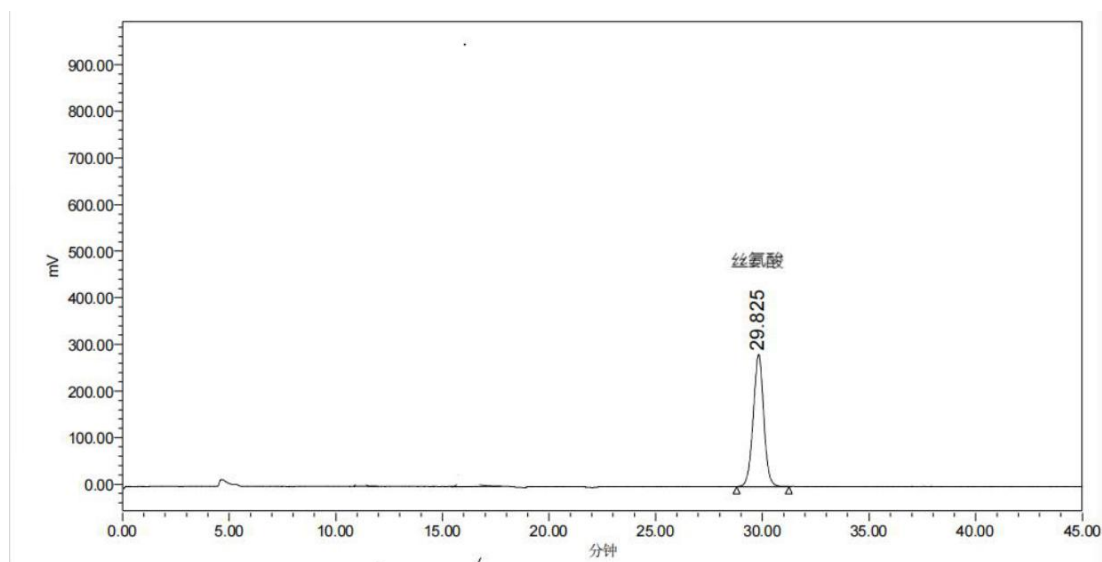


图 B.1 丝氨酸标准品色谱图

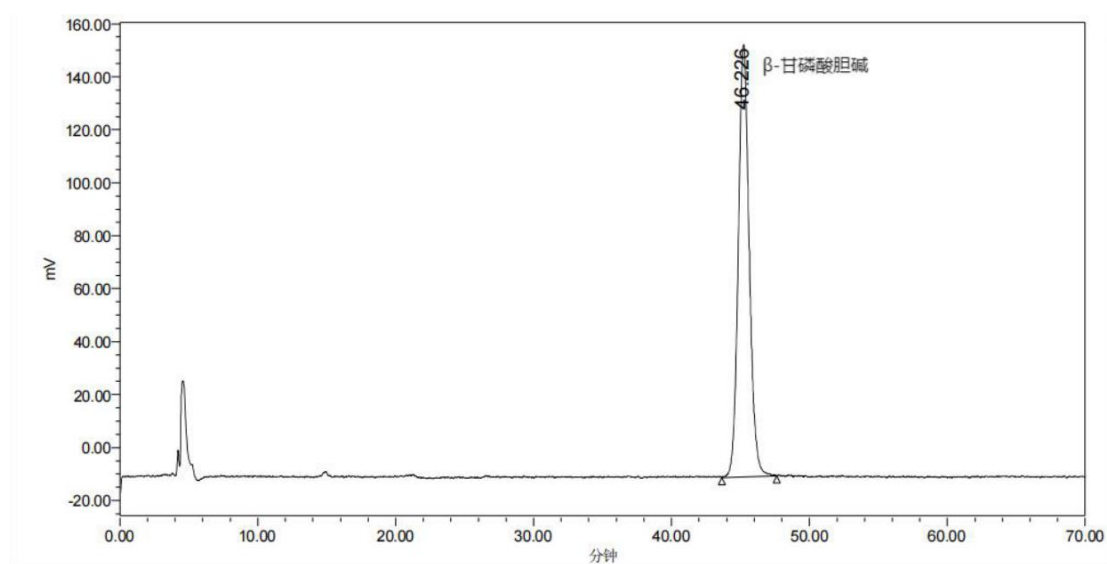


图 B.2 β -甘磷酸胆碱的定性色谱图

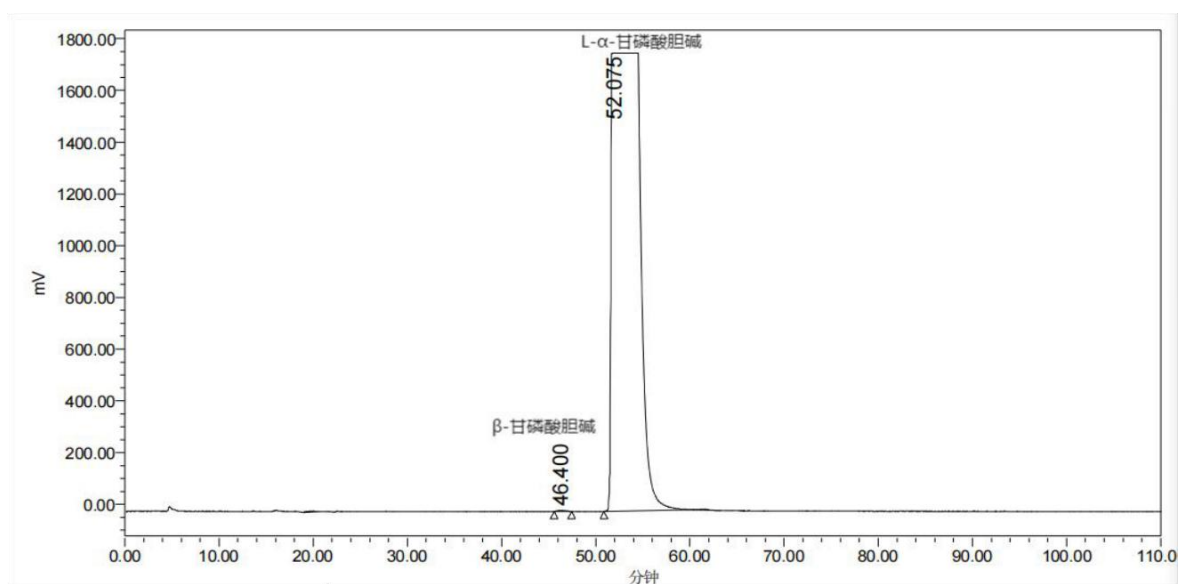


图 B.3 L- α -甘磷酸胆碱试样测定色谱图

附录 C

D- α -甘磷酸胆碱测定方法 液相色谱法

C.1 原理

L- α -甘磷酸胆碱和 D- α -甘磷酸胆碱通过手性硅胶色谱柱分离，使用高效液相色谱蒸发光检测器检测，以 L- α -甘磷酸胆碱（与 D- α -甘磷酸胆碱校正因子一致）为标准品，标准曲线法定量。

C.2 试剂和溶液

C.2.1 L- α -甘磷酸胆碱标准品（CAS 号：28319-77-9），纯度 $\geq 99\%$ 。

C.2.2 D- α -甘磷酸胆碱（CAS 号：4217-84-9），本品为定性标准品，用于定性分析。

C.2.3 水，GB/T 6682 规定的一级水。

C.2.4 无水乙醇，色谱纯。

C.2.5 异丙醇，色谱纯。

C.2.6 甲醇，色谱纯。

C.2.7 正己烷，色谱纯。

C.2.8 二乙胺，分析纯。

C.2.9 稀释液，无水乙醇：异丙醇：甲醇=90:5:5（v:v:v），色谱纯。

C.3 仪器和设备

C.3.1 高效液相色谱仪：配备蒸发光检测器。

C.3.2 电子天平：感量 0.01 mg 或 0.1 mg。

C.4 分析步骤

C.4.1 参考色谱条件

- a) 色谱柱：手性硅胶柱，250 mm×4.6 mm，粒径 5 μm ，表面共价键合型；
- b) 柱温：25℃；
- c) 流速：0.7 mL/min；
- d) 进样量：30 μL ；
- e) 流动相：以正己烷：稀释液：二乙胺=68:32:0.1 (v:v:v)，等度洗脱。

C.4.2 空白溶液制备

取稀释液作为空白溶液。

C.4.3 标准曲线溶液制备

准确称取 L- α -甘磷酸胆碱标准品 25 mg 于 100 mL 容量瓶中，加稀释液适量超声使溶解，定容，摇匀，得到 0.25 mg/mL L- α -甘磷酸胆碱标准储备液。分别准确量取 1.2 mL、1.5 mL、1.8 mL、2.1 mL 和 2.4 mL L- α -甘磷酸胆碱标准储备液于 100mL 容量瓶中，加稀释液至刻度，配制成 3.0 $\mu\text{g/mL}$ ，3.75 $\mu\text{g/mL}$ ，4.5 $\mu\text{g/mL}$ ，5.25 $\mu\text{g/mL}$ ，6.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准应用溶液，作为制作 L- α -甘磷酸胆碱标准曲线溶液。

C.4.4 D- α -甘磷酸胆碱定性溶液制备

称取 D- α -甘磷酸胆碱 3.125 mg 于 25 mL 容量瓶中，加稀释液超声使溶解，定容，作为 D- α -甘磷酸胆碱储备液。

准

确量取上述储备液 1.5 mL 于 50 mL 容量瓶中，加稀释液定容至刻度，摇匀备用。

C. 4. 5 试样溶液制备

准确称取 L-α-甘磷酸胆碱试样 75.00 mg 于 10 mL 容量瓶中，加稀释液适量超声使其溶解，取出放至室温，定容，摇匀，过滤后备用。

C. 5 测定

C. 5. 1 标准曲线的制作

在规定的色谱条件下取各 L-α-甘磷酸胆碱标准应用溶液 30 μL，分别注入液相色谱仪，进行色谱分析。以标准溶液中 L-α-甘磷酸胆碱标准品峰面积的对数为 X 轴，以进样质量(单位为微克 (μg)) 对数为 Y 轴，绘制标准曲线，得 L-α-甘磷酸胆碱标准曲线，其中标准曲线的斜率为 a，标准曲线的截距为 b。

C. 5. 2 试样溶液的测定

在规定的色谱条件下取空白溶液、D-α-甘磷酸胆碱定性溶液和试样溶液各 30 μL，分别注入液相色谱仪，进行色谱分析。以 D-α-甘磷酸胆碱定性溶液中 D-α-甘磷酸胆碱保留时间定性，并记录试样溶液色谱图中 D-α-甘磷酸胆碱的峰面积。

C. 6 计算

试样中 D-α-甘磷酸胆碱的含量按式 (1) 计算：

$$w = \frac{10 (a \times \lg A + b) \times V \times 100}{m \times v} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

w —试样中 D- α -甘磷酸胆碱含量，单位为克每百克（g/100 g）；

a — L- α -甘磷酸胆碱标准品标准曲线的斜率；

b — L- α -甘磷酸胆碱标准品标准曲线的截距；

A —测得试样溶液中 D- α -甘磷酸胆碱的峰面积；

V —试样溶液制备时的定容体积，单位为毫升（mL）；

v —进样量，单位为微升（ μL ）；

m —试样溶液制备时的称样量，单位为毫克（mg）；

100—试样中量以每 100 克计算的换算系数。

C.7 精确度

试验结果以两次平行测定结果的算术平均值为准。在重复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 20%。

C.8 检出限和定量限

当取样量为 75.00 mg 时，本方法检出限为 0.027 g/100 g，定量限为 0.04 g/100 g。

C.9 液相色谱图

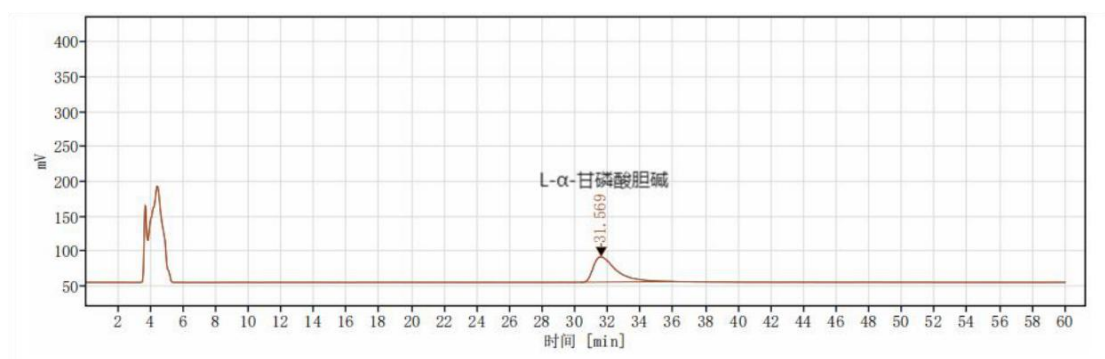


图 C.1 L- α -甘氨酸胆碱标准品色谱图

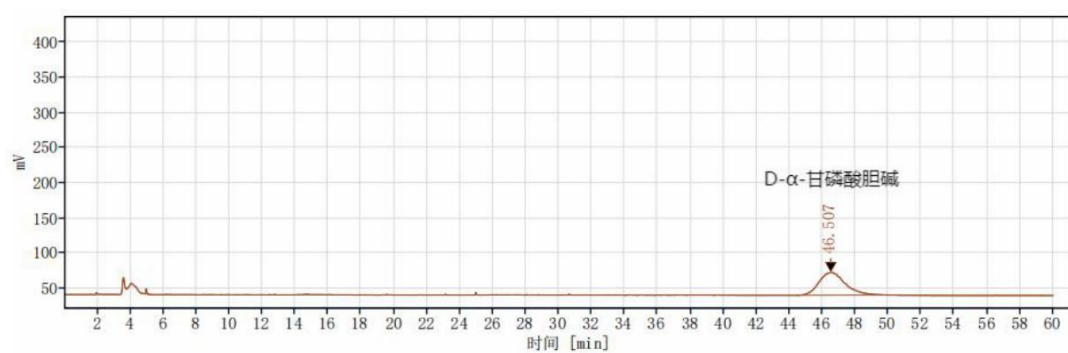


图 C.2 D- α -甘氨酸胆碱的定性色谱图

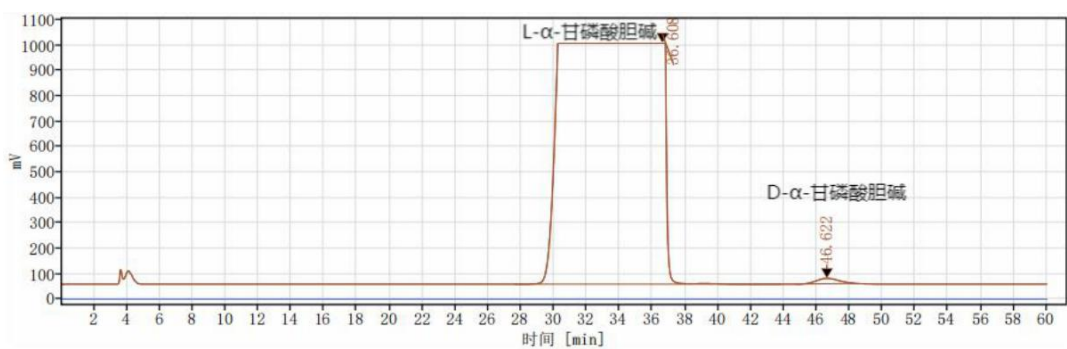


图 C.3 L- α -甘氨酸胆碱试样色谱图