



中华人民共和国国家标准

GB/T 17481—2025

代替 GB/T 17481—2008

添加剂预混合饲料中氯化胆碱的测定

Determination of choline chloride in feed additive premix

2025-08-29 发布

2026-03-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 GB/T 17481—2008《预混料中氯化胆碱的测定》，与 GB/T 17481—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 增加了离子色谱法的检出限，更改了雷氏盐分光光度法的定量限（见第1章，2008年版的第1章）；
- b) 增加了标准系列溶液（见4.2.8）；
- c) 更改了试样溶液的制备（见4.5.1，2008年版的3.5.1）；
- d) 更改了离子色谱参考条件（见4.5.2，2008年版的3.5.2.1）；
- e) 增加了定性和定量要求（见4.5.3.2和4.5.3.3）；
- f) 更改了试验数据处理（见4.6和5.6，2008年版的3.6和4.6）；
- g) 增加了雷氏盐甲醇溶液的有效期（见5.2.5）；
- h) 更改了标准系列溶液制备（见5.5.3，2008年版的4.5.3.2）；
- i) 更改了标准曲线绘制和试样测定（见5.5.4，2008年版的4.5.3.1）。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）提出并归口。

本文件起草单位：四川威尔检测技术股份有限公司、国粮武汉科学研究设计院有限公司、全国畜牧总站。

本文件主要起草人：杜雪莉、唐姣、栗胜兰、张凤枰、王博媛、周婕敏、陈玲、马慧芳、李明、雷宝良、田海峰、王海燕、杜言、卢加文、宋军、杨发树、孙阳阳、何永超。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——1998年首次发布为 GB/T 17481—1998，2008年第一次修订；

——本次为第二次修订。

添加剂预混合饲料中氯化胆碱的测定

1 范围

本文件描述了添加剂预混合饲料中氯化胆碱的离子色谱和雷氏盐分光光度测定方法。

本文件适用于维生素预混合饲料和复合预混合饲料中氯化胆碱的测定。

本文件离子色谱法的检出限为 20 mg/kg、定量限为 50 mg/kg；雷氏盐分光光度法的定量限为 5 000 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 离子色谱法

4.1 原理

试样中的氯化胆碱用水或三氯甲烷-甲醇溶液提取，阳离子交换色谱-电导检测器检测，外标法定量。

4.2 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

4.2.1 水：GB/T 6682，一级。

4.2.2 乙二胺四乙酸二钠（EDTA 二钠）。

4.2.3 甲醇：色谱纯。

4.2.4 三氯甲烷-甲醇溶液：量取 90 mL 三氯甲烷和 900 mL 甲醇，混匀。

4.2.5 甲磺酸溶液（24 mmol/L）：称取 2.304 g 甲磺酸于 1 000 mL 烧杯中，加水 800 mL，溶解，转移至 1 000 mL 容量瓶中，用水定容，混匀。

4.2.6 标准储备溶液（2 mg/mL）：称取 200 mg（精确至 0.1 mg）氯化胆碱标准品（CAS 号：67-48-1，纯度不低于 99.5%）于 100 mL 容量瓶中，用水溶解、定容，混匀。2℃～8℃保存，有效期 3 个月。

4.2.7 标准中间溶液（100 μg/mL）：准确移取 5 mL 标准储备溶液（4.2.6）于 100 mL 容量瓶中，用水稀释、定容，混匀。临用现配。

4.2.8 标准系列溶液：分别准确移取适量标准中间溶液（4.2.7），用水稀释、定容，混匀，制备成质量浓度

分别为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液。临用现配。

4.2.9 净化柱:聚二乙烯基苯聚合物反相填料,1 mL。

4.2.10 微孔滤膜:0.45 μm ,水系。

4.2.11 滤纸:定性,快速。

4.3 仪器设备

4.3.1 离子色谱仪:配电导检测器。

4.3.2 分析天平:精度 0.1 mg。

4.3.3 水浴锅。

4.3.4 超声清洗器。

4.3.5 涡旋混合器。

4.3.6 氮吹仪。

4.4 样品

按 GB/T 20195 制备样品,至少 200 g,粉碎使其全部通过 0.425 mm 孔径的试验筛,充分混匀,装入密闭容器中,避光保存。

4.5 试验步骤

4.5.1 试样溶液制备

4.5.1.1 维生素预混合饲料

平行做两份试验。称取试样 1 g~2 g(含氯化胆碱 0.01 g~0.2 g,精确至 0.1 mg),置于 100 mL 容量瓶中,加约 60 mL 水,摇匀,置于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中 20 min,超声 10 min,取出,冷却至室温,用水定容(V),摇匀,过滤。取 8 mL 滤液,过预先用 5 mL 甲醇(4.2.3)、15 mL 水活化的净化柱(4.2.9),弃去前 3 mL 滤出液,收集净化液,过微孔滤膜(4.2.10),待测。

4.5.1.2 复合预混合饲料

平行做两份试验。称取试样 1 g~2 g(精确至 0.1 mg),置于 100 mL 容量瓶中,加入 1 g~2 g ED-TA 二钠、60 mL 三氯甲烷-甲醇溶液(4.2.4),摇匀,超声提取 30 min,每 10 min 摇匀 1 次,取出,冷却至室温,用三氯甲烷-甲醇溶液(4.2.4)定容(V),摇匀,过滤。准确移取 8 mL 滤液于离心管中,40 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹至近干,准确加入 8 mL 水,涡旋混匀,过预先用 5 mL 甲醇(4.2.3)、15 mL 水活化的净化柱(4.2.9),弃去前 3 mL 滤出液,收集净化液,过微孔滤膜(4.2.10),待测。

4.5.2 离子色谱参考条件

离子色谱参考条件如下:

- 色谱柱:弱酸型阳离子交换柱,柱长 250 mm,内径 4 mm,粒径 8.5 μm ,或性能相当者;
- 保护柱:弱酸型阳离子交换柱,柱长 50 mm,内径 4 mm,粒径 8.5 μm ,或性能相当者;
- 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;
- 淋洗液:甲磺酸溶液(4.2.5),或与离子色谱仪适配的淋洗液;
- 流速:1.0 mL/min;
- 进样量:25 μL 。

4.5.3 测定

4.5.3.1 标准溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取标准系列溶液(4.2.8)和试样溶液(4.5.1)上机测定。氯化胆碱标准溶液的离子色谱图见附录 A。

4.5.3.2 定性

以保留时间定性,试样溶液中氯化胆碱保留时间应与标准系列溶液(质量浓度相当)中氯化胆碱的保留时间一致。

4.5.3.3 定量

以氯化胆碱的质量浓度为横坐标、色谱峰面积(响应值)为纵坐标,绘制标准曲线,其相关系数应不低于 0.99。试样溶液中氯化胆碱的质量浓度应在标准曲线的线性范围内。如超出范围,应将试样溶液用水稀释后重新测定。单点校准定量时,试样溶液中待测物的质量浓度与标准溶液的质量浓度相差不超过 30%。目标峰与相邻峰之间的分离度应大于 1.5。

4.6 试验数据处理

试样中氯化胆碱的含量 w ,多点校准按公式(1)计算,单点校准按公式(2)计算,数值以毫克每千克(mg/kg)表示。

$$w = \frac{\rho \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \times f \dots\dots\dots (1)$$

- 式中:
- ρ ——从标准曲线查得的试样溶液中氯化胆碱的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 - V ——试样溶液体积,单位为毫升(mL);
 - 1 000 ——换算系数;
 - m ——试样质量,单位为克(g);
 - f ——超出标准曲线线性范围的试样溶液稀释倍数。

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V \times 1\,000}{A_s \times m \times 1\,000} \times f \dots\dots\dots (2)$$

- 式中:
- A ——试样溶液中氯化胆碱色谱峰面积;
 - ρ_s ——标准溶液氯化胆碱质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 - V ——试样溶液体积,单位为毫升(mL);
 - 1 000 ——换算系数;
 - A_s ——标准溶液中氯化胆碱色谱峰面积;
 - m ——试样质量,单位为克(g);
 - f ——试样溶液稀释倍数。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

4.7 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 10%。

5 雷氏盐分光光度法

5.1 原理

试样中的氯化胆碱用三氯甲烷-甲醇溶液提取,蒸干溶剂后用水溶解,再在低温下加入雷氏盐生成结晶,过滤,获得的结晶物用丙酮溶解,在 525 nm 波长下测定吸光度,与标准系列溶液比较定量。

5.2 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

5.2.1 水:GB/T 6682,二级。

5.2.2 甲醇。

5.2.3 丙酮。

5.2.4 三氯甲烷-甲醇溶液:量取 90 mL 三氯甲烷和 900 mL 甲醇,混匀。

5.2.5 雷氏盐(二氨基四硫代氰酸铬铵, $[\text{NH}_4\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]$)甲醇溶液(40 g/L):称取 4 g 雷氏盐,用甲醇溶解、定容至 100 mL,混匀,2 °C~8 °C 保存,有效期 48 h。

5.2.6 标准储备溶液(1 mg/mL):称取 100 mg(精确至 0.1 mg)氯化胆碱标准品(CAS 号:67-48-1,纯度不低于 99.5%),置于 100 mL 容量瓶中,用水溶解、定容,混匀。2 °C~8 °C 保存,有效期 1 个月。

5.2.7 定性滤纸:慢速。

5.3 仪器设备

5.3.1 分光光度计:配 1 cm 比色皿。

5.3.2 分析天平:精度 0.1 mg。

5.3.3 往复式振荡器:不低于 120 次/min。

5.3.4 水浴锅。

5.3.5 离心机。

5.3.6 坩埚式过滤器:孔径 4 μm~7 μm。

5.4 样品

按 GB/T 20195 制备样品,至少 200 g,粉碎使其全部通过 0.425 mm 孔径的试验筛,充分混匀,装入密闭容器中,避光保存。

5.5 试验步骤

5.5.1 提取

平行做两份试验。称取试样 5 g(精确至 0.1 mg)(含氯化胆碱 0.04 g~0.4 g)于具塞锥形瓶中,准确加入三氯甲烷-甲醇溶液(5.2.4)100 mL(V_1),加塞,置于振荡器上,120 次/min 振荡 30 min,用定性滤纸(5.2.7)过滤,滤液为试样提取溶液。

5.5.2 氯化胆碱雷氏盐生成和溶出

准确移取 5 mL(V_1)试样提取溶液(5.5.1)于 100 mL 高型烧杯中,置 50 °C 水浴上蒸发至干,加水 40 mL 溶解残渣,于冰浴中冷却至 5 °C 以下,加入 3 mL 雷氏盐甲醇溶液(5.2.5),每 10 min 搅拌 1 次,反应 30 min,得到氯化胆碱雷氏盐结晶。

将生成的结晶转入坩埚式过滤器中真空抽滤,用水冲洗烧杯,洗液一并抽滤。滤毕,结晶水洗

3 次, 每次 5 mL, 再用 5 mL 甲醇洗 1 次, 抽干, 向过滤器中加入丙酮, 使结晶溶解, 转入 50 mL 容量瓶中, 用丙酮冲洗过滤器, 洗液一并转入 50 mL(V_2) 容量瓶中, 用丙酮定容, 混匀, 作为试样溶液, 待测。
同时做空白试验。

5.5.3 标准系列溶液制备

准确移取标准储备溶液(5.2.6) 5 mL、10 mL、15 mL、20 mL、25 mL, 分别置于 100 mL 高型烧杯中, 加水至 40 mL, 于冰浴中冷却至 5 ℃ 以下, 加入 3 mL 雷氏盐甲醇溶液(5.2.5), 每 10 min 搅拌 1 次, 反应 30 min, 得到氯化胆碱雷氏盐结晶。
将生成的结晶转入坍塌式过滤器中真空抽滤, 用水冲洗烧杯, 洗液一并抽滤。滤毕, 结晶水洗 3 次, 每次 5 mL, 再用 5 mL 甲醇洗 1 次, 抽干, 向过滤器中加入丙酮, 使结晶溶解, 转入 50 mL 容量瓶中, 用丙酮冲洗过滤器, 洗液一并转入 50 mL(V_2) 容量瓶中, 用丙酮定容, 混匀, 制成质量浓度分别为 0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL 的标准系列溶液。

5.5.4 标准曲线绘制和试样测定

分别准确移取 5 mL 标准系列溶液(5.5.3)、5 mL 试样溶液(5.5.2), 分别置于 10 mL 离心管中, 3 000 r/min 离心 5 min, 取上层清液, 以空白溶液作参比, 用 1 cm 比色皿在 525 nm 波长下测定标准系列溶液和试样溶液的吸光度, 以标准系列溶液的质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线, 在标准曲线上查得试样溶液中氯化胆碱的质量浓度。

5.6 试验数据处理

试样中氯化胆碱的含量 w 按公式(3)计算, 数值以毫克每千克(mg/kg)表示。

$$w = \frac{\rho \times V \times V_2 \times 1\,000}{m \times V_1} \dots\dots\dots (3)$$

- 式中:
- ρ ——由标准曲线得到的试样溶液中氯化胆碱质量浓度, 单位为毫克每毫升(mg/mL);
 - V ——试样提取溶液总体积, 单位为毫升(mL);
 - V_2 ——试样溶液总体积, 单位为毫升(mL);
 - 1 000 ——换算系数;
 - m ——试样质量, 单位为克(g);
 - V_1 ——提取溶液的分取体积, 单位为毫升(mL)。

测定结果以平行测定的算术平均值表示, 保留 3 位有效数字。

5.7 精密度

在重复性条件下, 两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 15%。

附 录 A

(资料性)

氯化胆碱标准溶液离子色谱图

氯化胆碱标准溶液离子色谱图见图 A.1。

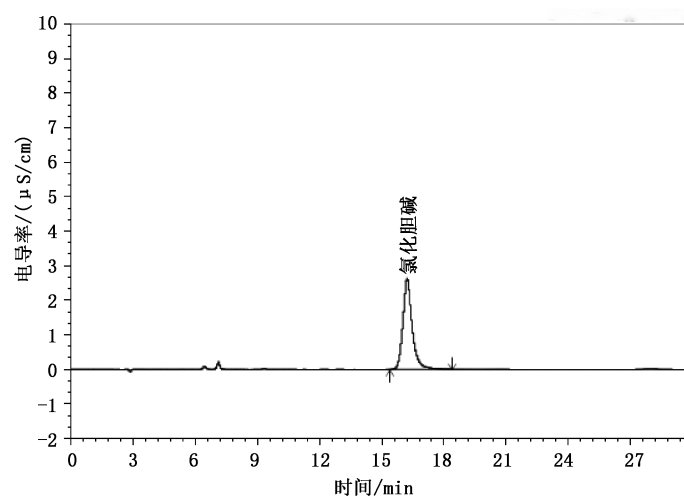


图 A.1 氯化胆碱标准溶液(20 $\mu\text{g/mL}$)离子色谱图