

ICS 67.050

X 04

团 标 准

T/HZBX 031-2020

氨基葡萄糖类化合物的含量测定 高效液相色谱法

Determination method for glucosamine - High performance liquid chromatography

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

惠州市标准化协会 发布

前 言

本文件根据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。

本文件由惠州市标准化协会提出并归口。

本文件主要起草单位：惠州市食品药品检验所、广东省惠州市质量技术监督标准与编码所、惠州市百草植物制品有限公司。

本文件主要起草人：黄秀丽、翁嘉、张丰芸、王晓琴、温晓裕、林凤屏、陈嘉聪、陈文财、宁燕凌、刘文标。

氨基葡萄糖类化合物的含量测定 ---高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了盐酸氨基葡萄糖和硫酸氨基葡萄糖的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于保健食品中盐酸氨基葡萄糖和硫酸氨基葡萄糖的测定。

本文件中盐酸氨基葡萄糖的检出限为0.04 mg/mL，定量限为0.12 mg/mL；硫酸氨基葡萄糖的检出限为0.05 mg/mL，定量限为0.15 mg/mL。

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

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

用乙腈将样品分散均匀，以水溶解，经液相色谱分离后，在波长192 nm测定，外标法定量。

5 仪器与设备

实验室常用仪器设备，以及下列仪器设备：

- a) 超声波发生器；
- b) 分析天平：感量为0.1 mg和0.01 mg；
- c) 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

6 试剂与材料

除非另有规定，所有试剂均为分析纯。实验用水应符合GB/T 6628 中三级水要求，色谱用水符合GB/T 6682 中一级水规定的要求。

6.1 乙腈：色谱纯。

6.2 盐酸氨基葡萄糖标准品：纯度 $\geq 98\%$ 。

6.3 硫酸氨基葡萄糖：纯度 $\geq 98\%$ 。

6.4 标准储备溶液：准确称取盐酸氨基葡萄糖或硫酸氨基葡萄糖对照品 20 mg（精确至 0.01 mg），置于 20 mL 容量瓶中，加入 5 mL 乙腈，振荡使其分散均匀，再加入适量水，超声溶解后用水定容至刻度。标准储备溶液的浓度为 1.0 mg/mL，置于 2 ℃~4 ℃冰箱中保存备用。

6.5 标准系列工作液：分别吸取适量盐酸氨基葡萄糖或硫酸氨基葡萄糖标准储备溶液用水稀释定容，依次配制成浓度为 0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.6 mg/mL、0.8 mg/mL、1.0 mg/mL 的标准系列工作液，临用时配制。

6.6 滤膜：0.45 μm ，有机相。

7 测定步骤

7.1 试样溶液的制备

7.1.1 当试样为片剂时，先将其在研钵中研细成粉末；当试样为胶囊时，弃去胶囊壳，取其内容物。

7.1.2 准确称取 25 mg 试样（精确至 0.1 mg）于 50 mL 容量瓶中，加入 5 mL 乙腈，振荡使其分散均匀，再加入适量水，超声处理 10 min，最后用水定容至刻度，经 0.45 μm 滤膜过滤，待液相色谱仪测定。

7.2 色谱条件

- a) 流动相：乙腈：水（70：30）；
- b) 色谱柱：氨基柱（粒径 5 μm ，柱长 250 mm，内径 4.6 mm）；
- c) 流速：0.8 mL/min；
- d) 柱温：30 ℃；
- e) 检测波长：192 nm；
- f) 进样体积：10 μL 。

7.3 标准曲线的制作

将盐酸氨基葡萄糖或硫酸氨基葡萄糖标准系列工作液注入液相色谱仪中，测定相应的峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。盐酸氨基葡萄糖和硫酸氨基葡萄糖标准溶液的色谱图见图A.1 和图A.2。

7.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，以保留时间定性，同时记录峰面积，根据标准曲线得到待测液中目标物的含量。

8 结果的计算

试样中被测物的含量按式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \times 100 \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

式中：

X ——试样中被测物的含量, 单位为克每百克 (g/100g);

ρ ——从标准曲线得到待测液中目标物的浓度, 单位为微克每毫升 (mg/mL);

V ——试样溶液定容体积, 单位为毫升 (mL);

m ——试样质量, 单位为毫克 (mg) ;

100 ——试样中量以每100克计算的换算系数。

计算结果保留2位有效数字。

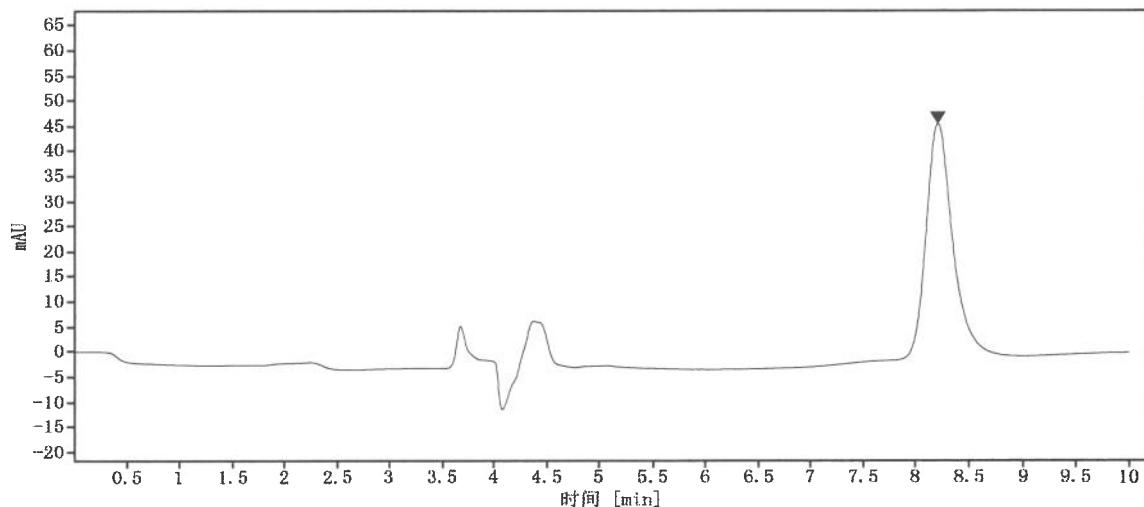
9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值的 10 %。

附录 A
(资料性附录)
对照品色谱图

A. 1 盐酸氨基葡萄糖对照品的液相色谱图

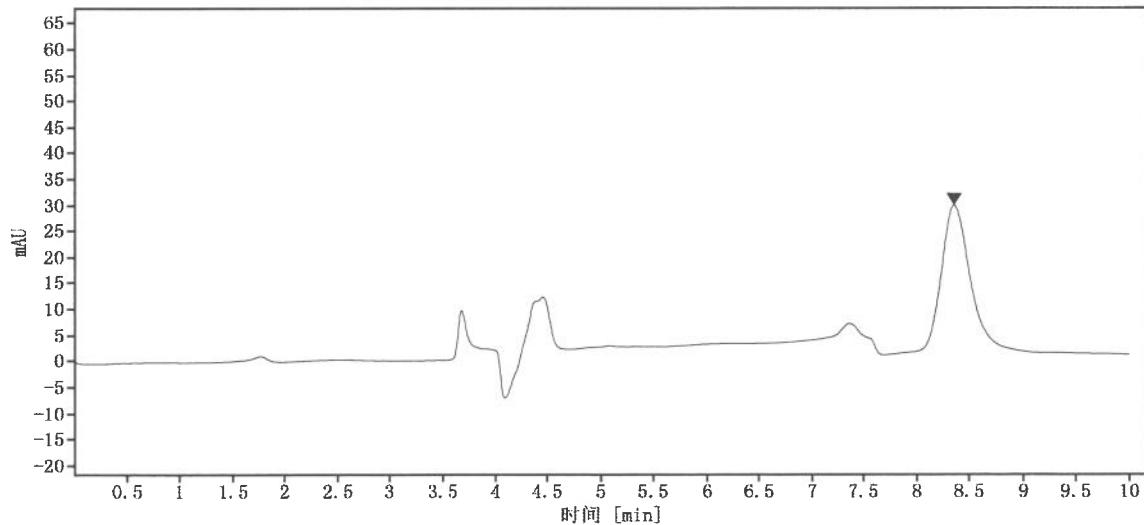
盐酸氨基葡萄糖对照品的液相色谱图见图A. 1。



图A. 1 0.4 mg/mL 盐酸氨基葡萄糖对照品色谱图

A. 2 硫酸氨基葡萄糖对照品的液相色谱图

硫酸氨基葡萄糖对照品的液相色谱图见图A. 2。



图A. 2 0.4 mg/mL 硫酸氨基葡萄糖对照品色谱图