

T/JTAIT

吉林省检验检测技术协会团体标准

T/XXX XXXX—2024

食品中氨基葡萄糖和氨基半乳糖的测定 液相色谱法

Determination of glucosamine and galactose in food Liquid chromatography

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

吉林省检验检测技术协会 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。

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。

本文件由吉林省产品质量监督检验院提出。

本文件由吉林省检验检测技术协会归口。

本文件起草单位：吉林省产品质量监督检验院、

本文件主要起草人：

食品中氨基葡萄糖和氨基半乳糖的测定 液相色谱法

1 范围

本文件规定了食品中 α 型氨基葡萄糖和 α 型氨基半乳糖的测定。以 α 型氨基葡萄糖或 α 型氨基半乳糖进行定性定量。

本文件适用于燕窝、牛奶、虾蟹贝类、氨糖类保健品（具体）等中 α 型氨基葡萄糖和 α 型氨基半乳糖的测定。

氨基葡萄糖和氨基半乳糖是C-4差向异构体，分子式为 $C_6H_{13}NO_5$ ，氨基葡萄糖分为 α 和 β 两种结构，结构式见图1，氨基半乳糖也分为 α 和 β 两种结构，结构式见图2。

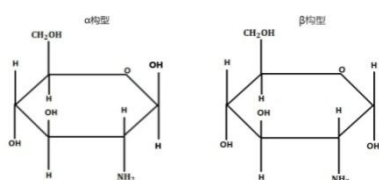


图1 氨基葡萄糖结构式

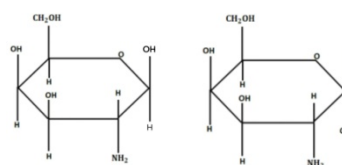


图2 氨基半乳糖结构式

相对分子质量：179.13（按2022年国际相对原子质量）。

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 6682-2008 《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

样品与衍生试剂茚甲氧羰酰氯反应，生成具有紫外吸收的化合物，用高效液相色谱法，在选定的色谱工作条件下，样品通过色谱柱使各组分分离，用紫外或二极管阵列检测器检测，外标法定量。

5 试剂及材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682-2008规定的一级水。

5.1 试剂及材料

5.1.1

茚甲氧羰酰氯（ $C_{15}H_{11}ClO_2$ ）：纯度 $\geq 99.0\%$ 。

5.1.2

硼酸（ H_3BO_3 ）：分析纯。

5.1.3

盐酸(HCl):分析纯。

5.1.4

磷酸(H₃PO₄):分析纯。

5.1.5

氢氧化钠(NaOH):分析纯。

5.1.6

乙酸(CH₃COOH):色谱纯。

5.1.7

乙腈(CH₃CN):色谱纯。

5.1.8

0.45 μm微孔过滤器。

5.2 试剂配制

5.2.1 苄甲氧羰酰氯溶液

精密称取0.05 g苄甲氧羰酰氯，用乙腈溶解并定容至10mL容量瓶中，溶液0~4℃避光冷藏，48 h内使用。

5.2.2 硼酸盐缓冲溶液

精密称取硼酸2.4 g，利用一级水溶解，定容到100 mL容量瓶中，氢氧化钠1.14 g，利用一级水溶解，定容到100 mL容量瓶中，利用pH计进行pH值的调节，将配置好的硼酸和氢氧化钠液进行不同体积比例混合，配制成pH值为10的缓冲溶液。

5.2.3 终止溶液

乙酸与乙腈(2:8)混合均匀，避光保存。

5.2.4 0.1%磷酸溶液

在1000 mL的容量瓶中加入约800 mL的水，缓慢加入1 mL的磷酸溶液，利用一级水定容，配制成浓度为0.1%的磷酸溶液，摇匀，利用抽滤装置进行抽滤过膜，排气泡，避光储藏，现用现配，待用。

5.2.5 0.1mol/L 盐酸溶液

在1000 mL的容量瓶中加入约800 mL的水，缓慢加入8.3mL盐酸，利用一级水定容，摇匀，待用。

5.2.6 4mol/L 盐酸溶液

在1000 mL的容量瓶中加入约500 mL的水，缓慢加入333mL盐酸，利用一级水定容，摇匀，待用。

5.3 标准品

5.3.1 氨基葡萄糖盐酸盐标准品(C₆H₁₄ClNO₅, CAS 号 66-84-2)

纯度≥99%，或经国家认证授予标准物质证书的标准品。

5.3.2 系列标准工作液

吸取标准储备液0.0 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、0.8 mL、1.0 mL于100mL容量瓶中，用0.1 mol/L盐酸定容至刻度，混匀。标准系列工作液的质量浓度分别为 0.0、1.0、2.0、5.0、8.0、10.0 mg/L，临用现配。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪

配有紫外检测器或二极管阵列检测器，整机灵敏度和稳定性符合 GB/T 16631。

6.2 超声波清洗器

6.3 离心机

6.4 氮吹仪

6.5 分析天平

分度值0.0001g。

6.6 抽滤装置

7 分析步骤

7.1 样品前处理

7.1.1 试样制备

称取经粉碎机粉碎后的样品100 mg于锥形瓶中，准确加入浓度为4 mol/L的盐酸溶液5 mL，摇匀，于90 ℃水浴锅中静置3 h，于室温下使用氮气吹干，再用10 mL水复溶，转移至离心管中，将处理的样液以离心速度10000 r/min离心5 min，取上清液备用。

7.1.2 衍生反应

取上清液（6.1.1）2.0mL于10mL离心管中，加入硼酸盐缓冲液（4.2.2）2.0mL，涡旋混匀，加入茚甲氧羰酰氯溶液（4.2.1）1.0mL，涡旋混匀，静置衍生10 min，加入终止液（4.2.3）2.0mL并涡旋终止衍生反应，将上述溶液用0.45 μm的微孔过滤器过滤后，待测。

7.2 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C18，250 mm×4.6 nm, 5 μm，或相当者。
 - b) 柱温：室温。
 - c) 检测波长：265nm。
 - d) 流动相：0.1%磷酸溶液 乙腈
 - e) 流速：1mL/min。
 - f) 进样量：20μL。
 - g) 洗脱方式：梯度洗脱
- 梯度洗脱见表1。

表1 推荐的流动相洗脱梯度

时间	乙腈	磷酸（0.1%）
0	20	80
5	25	75
20	50	50
25	70	30
30	20	80
35	20	80

7.3 标准曲线的建立

按照（4.4.2）系列标准工作溶液进行测定，以质量浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。以α-氨基葡萄糖或α-氨基半乳糖进行定性定量。

α-型氨基葡萄糖和α-型氨基半乳糖的色谱图参见附录A。

7.4 试样溶液的测定

按照7.2色谱条件进行检测，根据标准曲线得到待测液中 α -氨基葡萄糖或 α -氨基半乳糖的含量。

7.5 空白试验

按照与试样测定（6.4）相同的仪器条件进行空白试样的测定。

8 结果计算与表示

8.1

试样中 α 型氨基葡萄糖和 α 型氨基半乳糖的质量分数 ω_1 （mg/kg），按式（1）计算：

$$\omega_1 = \frac{(\rho - \rho_0) \times v}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中： ω_1 — α 型氨基葡萄糖或 α 型氨基半乳糖的质量分数，mg/kg；

ρ —从标准曲线得到 α 型氨基葡萄糖或 α 型氨基半乳糖质量浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

ρ_0 —空白试样的质量浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

v —试样的定容体积，mL；

m —试样的质量，mg。

8.2 结果表示

取两次平行测定结果的算数平均值作为测定结果。两次平行测定结果的绝对差值不大于10%。

9 精密度和准确度

9.1 精密度

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数平均值的20%。

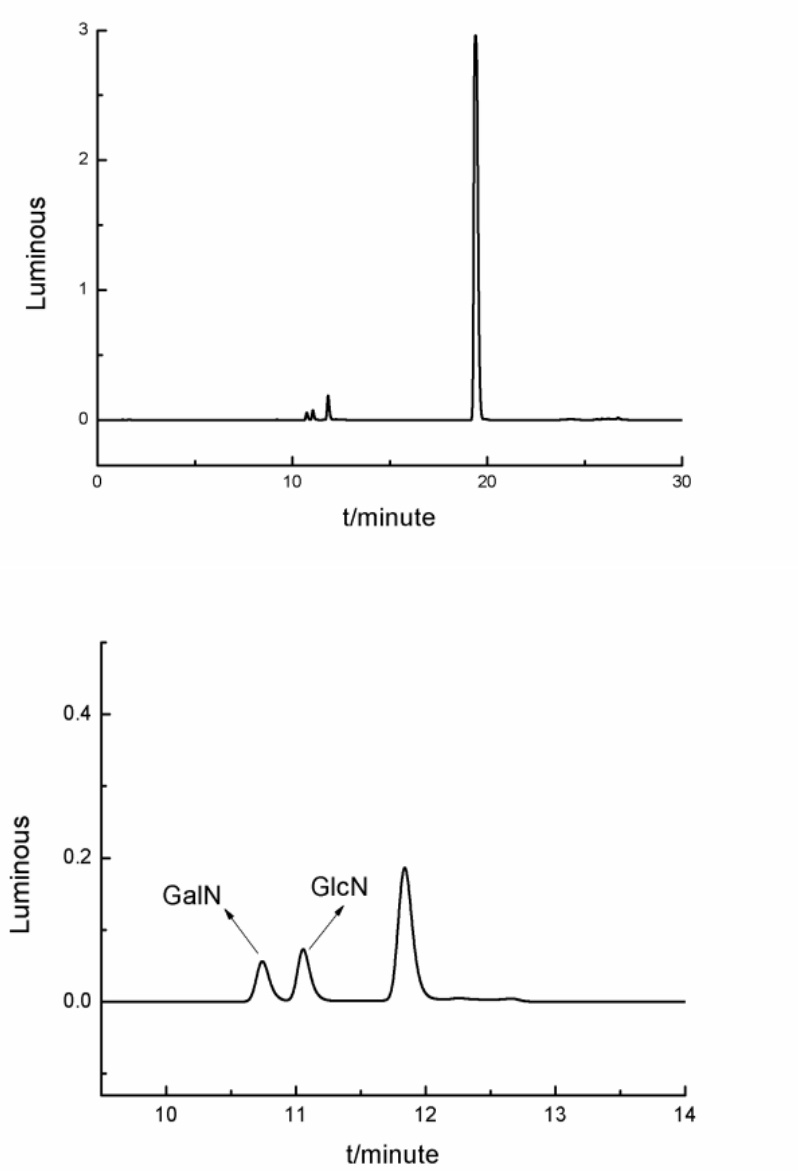
9.2 准确度

实际样品加标或有证标准物质测定加标回收率范围在80.0%~120.0%之间。

附 录 A
(资料性)

α 型氨基葡萄糖和 α 型氨基半乳糖标准溶液的液相色谱图

α 型氨基葡萄糖和 α 型氨基半乳糖标准溶液的液相色谱图见图A。



标引序号说明：
GlcN——氨基葡萄糖。
GalN——氨基半乳糖。