DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260105004
引用格式: 吴祥骞, 迟华忠, 顾怡, 等. 柱前衍生-高效液相色谱法测定保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(10): 58–65.
WU XQ, CHI HZ, GU Y, *et al*. Determination of glucosamine hydrochloride content in health foods by pre-column derivatization-high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(10): 58–65. (in Chinese with English abstract).

柱前衍生-高效液相色谱法测定保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量

吴祥骞[1,2*], 迟华忠[1,2], 顾　怡[1], 闵陈莹[1], 赵盼盼[1,2]

[1. 江苏华膳健康科技有限公司, 苏州　215400; 2. 佳格食品(中国)有限公司, 苏州　215400]

摘　要: 目的　建立以异硫氰酸苯酯为衍生试剂, 采用柱前衍生-高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量的方法。**方法**　样品经水超声提取后, 经异硫氰酸苯酯衍生, 采用 Agilent Porshell 120 EC-C_{18} (4.6 mm×150 mm, 4 μm)色谱柱, 以乙酸钠和甲醇为流动相梯度洗脱, 流速为 0.8 mL/min, 在 HPLC-紫外检测器 245 nm 下测定。柱前衍生化条件为: 取 1 mL 供试品溶液, 加入 6 mL 磷酸盐缓冲液, 涡旋混匀, 室温放置 15 min, 再加入 2 mL 衍生液置于同一比色管中, 在 80 ℃水浴 30 min 后迅速冷却至室温, 用纯水定容至 10 mL。**结果**　盐酸氨基葡萄糖在 25~250 mg/100 g 范围内呈良好线性关系(r^2=0.9993), 盐酸氨基葡萄糖的检出限为 0.0050 mg/mL, 定量限为 0.0100 mg/mL, 重复性的相对标准偏差为 0.81%, 回收率在 97.9%~99.9%。**结论**　该方法操作简单、结果重复性好, 适用于保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量的测定。

关键词: 盐酸氨基葡萄糖; 异硫氰酸苯酯; 柱前衍生; 高效液相色谱法; 保健食品

Determination of glucosamine hydrochloride content in health foods by pre-column derivatization-high performance liquid chromatography

WU Xiang-Qian[1,2*], CHI Hua-Zhong[1,2], GU Yi[1], MIN Chen-Ying[1], ZHAO Pan-Pan[1,2]

[1. *Jiangsu Huashan Wellness Technology Co*., *Ltd.*, *Suzhou* 215400, *China*;
2. *Standard Foods* (*China*) *Co*., *Ltd*., *Suzhou* 215400, *China*]

ABSTRACT: Objective　To establish a method for the determination of glucosamine hydrochloride content in health foods, with phenyl-isothiocyanate as the derivatizing reagent by pre-column derivatization-high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods**　Samples were ultrasonically extracted with water, and the extract was derivatized with phenyl-isothiocyanate. Separation was achieved on an Agilent Poroshell 120 EC-C_{18} column (4.6 mm×150 mm, 4 μm) via gradient elution with sodium acetate and methanol as mobile phases at a flow rate of 0.8 mL/min. Detection was performed at 245 nm using a HPLC-ultraviolet detector. Pre-column derivatization conditions: 1 mL sample solution was vortex-mixed with 6 mL phosphate buffer, equilibrated at room temperature for 15 min, then mixed with 2 mL phenyl-isothiocyanate reagent in the same colorimetric tube. The mixture was heated in an 80 ℃

收稿日期: 2026-01-05
第一作者/*通信作者: 吴祥骞(1990—), 男, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全检测。E-mail: 377513783@qq.com

water bath for 30 min, rapidly cooled to room temperature, and diluted to 10 mL with water. **Results** Glucosamine hydrochloride exhibited a good linearity in the range of 25–250 mg/100 g (r^2=0.9993). The limit of detection for glucosamine hydrochloride was 0.0050 mg/mL, and the limit of quantitation was 0.0100 mg/mL. The repeatability relative standard deviation was 0.81%, and the recovery rates ranged from 97.9% to 99.9%. **Conclusion** This method is simple to operate and exhibits good repeatability, making it suitable for the determination of glucosamine hydrochloride content in health foods.

KEY WORDS: glucosamine hydrochloride; phenyl isothiocyanate; pre-column derivatization; high performance liquid chromatography; health food

0　引　言

氨基葡萄糖是一种天然存在的氨基单糖, 大量存在于黏膜、韧带、软骨、关节、结缔组织和滑液中[1]。氨基葡萄糖化学性质不稳定, 市售的氨基葡萄糖通常以盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐及有机盐等形式存在[2]。盐酸氨基葡萄糖, 又称 *D*-氨基葡萄糖盐酸盐、葡胺糖盐酸盐, 是一种稳定化合物, 可由节肢动物外壳中提取的甲壳素在盐酸溶液中充分水解制得[3]。作为药品和保健食品中的重要功效成分, 它可以修复和维持软骨及关节功能[4], 改善关节活动、缓解疼痛, 有效推迟骨性关节炎发展, 在预防和治疗骨质疏松症方面作用显著[5–6]; 盐酸氨基葡萄糖具有心脏保护作用, 并能减少体内脂质的积累[7], 参与减轻肥胖[8], 还可参与抗癌抑菌[9]、肝肾解毒[10–11]、抗氧化[12]、抗炎护肝。研究显示, 盐酸氨基葡萄糖安全性良好, 临床随机实验未发现急性、遗传或亚急性毒性, 不良反应少, 无严重或致死性事件, 荟萃分析结果也较为乐观[13–14]。

目前, 国内外对盐酸氨基葡萄糖的测定主要采用分光光度法[15]、电位滴定法[16]、高效液相色谱法[17–22]和液相色谱-质谱法[23]等。前两种方法具有准确性较差、灵敏度低、重现性较差等缺点, 高效液相色谱法具备良好的准确度与稳定性, 检测成本经济合理, 适用于大批量样品的快速定量分析, 是较常用的检测方法。石维等[24]采用高效液相法测定了保健品中盐酸氨基葡萄糖的含量, 线性良好, 但存在保健品配方成分复杂的问题, 会干扰实验结果。冯雪萍等[25]建立了反相离子对色谱分析法来检测保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量, 盐酸氨基葡萄糖加标回收率在102.1%~106.0%之间。保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量测定可参照 GB/T 20365—2006《硫酸软骨素和盐酸氨基葡萄糖含量的测定 液相色谱法》, 但是该方法适用于纯物质的测定, 其已无法满足现阶段食品分析的需要, 在检测保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量时会出现准确度低、再现性差等问题, 而保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量测定尚未有标准方法出台。采用衍生剂将盐酸氨基葡萄糖转化为对紫外有稳定吸收的基团物质后再进行检测是常见的前处理方法[26], 衍生剂大多选用邻苯二甲醛和异硫氰酸苯酯[27–28]。

本研究针对保健食品的基质特点, 利用衍生剂柱前衍生的方法, 使用高效液相色谱法测定盐酸氨基葡萄糖的含量。通过衍生剂的选择, 衍生化条件的优化, 线性范围、重复性和准确性等进行实验, 最终建立异硫氰酸苯酯柱前衍生法测定保健品中盐酸氨基葡萄糖含量的检测方法, 改善了以往方法在检测保健食品中盐酸氨基葡萄糖过程中准确度低、再现性差等问题, 以期提高检测准确度和效率, 为企业和相关机构质量保障提供更有效的技术支持。

1　材料与方法

1.1　实验材料

乳矿物盐氨糖软骨素粉, 主要成分为浓缩乳清蛋白粉, 乳矿物盐, 氨基葡萄糖盐酸盐等, 购于江苏华膳健康科技有限公司。

1.2　试剂与仪器

甲醇(色谱纯)、氨基葡萄糖盐酸盐标准品(纯度≥98.0%)(上海安谱实验科技股份有限公司); 氯化钠(分析纯, 永华化学股份有限公司); 磷酸氢二钠、氯化钾、冰醋酸(分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司); 磷酸氢二钾(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 氢氧化钠(优级纯)、无水乙酸钠(分析纯)(上海阿拉丁试剂生化科技股份有限公司); 异硫氰酸苯酯、邻苯二甲醛、无水四硼酸钠、2-巯基乙醇(分析纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司)。

1260 Infinity II高效液相色谱仪(配紫外检测器)、色谱柱 Agilent Porshell 120 EC-C_{18} (150 mm×4.6 mm, 4 μm)(美国 Agilent 公司); MS204TS 电子天平(精度 0.1 mg)、XSR105 电子天平(精度 0.01 mg)、FE20 pH 计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; DM VORTEX3 涡旋振荡器(上海达姆实业有限公司); ST16R 高速离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; SHA-2 冷冻水浴恒温振荡器(常州峥嵘仪器有限公司); DS-7510DTH 超声波清洗机(上海生析超声仪器有限公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　溶液配制

磷酸盐缓冲液: 分别取氯化钠 8 g、磷酸氢二钠 1.2 g、磷酸氢二钾 0.2 g、氯化钾 0.2 g 溶于同一 900 mL 水中, 用

氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.0, 用水定容至 1 L, 混匀即得。邻苯二甲醛衍生液(0.4%, *V*:*V*): 称取 0.4 g 邻苯二甲醛, 溶于 20 mL 甲醇中, 用硼砂溶液稀释至 100 mL, 加入 2-巯基乙醇 0.1 mL, 混匀, 临用现配。硼砂溶液(0.05 mol/L, pH=10.5): 称取无水四硼酸钠 19.1 g, 溶于 980 mL 水中, 用氢氧化钠溶液调节 pH 至 10.5, 用水稀释至 1 L, 混匀。异硫氰酸苯酯衍生液(1%, *V*:*V*): 取异硫氰酸苯酯 1 mL, 加甲醇溶解并定容至 100 mL。乙酸钠溶液(pH=6.0): 取无水乙酸钠 6.8 g, 溶于 950 mL 水中, 用冰乙酸调节 pH 至 6.0, 加水定容至 1 L, 混匀后过 0.45 μm 滤膜备用。

1.3.2 标准溶液

盐酸氨基葡萄糖标准储备液(10 mg/mL): 精密称取盐酸氨基葡萄糖标准品 250 mg, 置于 25 mL 容量瓶中, 用水溶解并容至刻度, 摇匀。

盐酸氨基葡萄糖标准中间液(5 mg/mL): 精密移取 5 mL 盐酸氨基葡萄糖标准储备液(10 mg/mL)置于 10 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀。

1.3.3 供试品溶液制备

取混匀后样品 1 g, 精密称定至 0.1 mg, 置于 50 mL 容量瓶中, 加水 40 mL, 充分振摇 5 min 后, 超声提取 30 min, 取出放冷后用纯水定容至刻度并摇匀。取溶液置于 50 mL 具塞塑料离心管中, 以 10000 r/min 离心 5 min 后, 备用。空白组为不称取样品, 与供试品溶液相同操作方法处理。

1.3.4 色谱条件

仪器: 1260 Infinity II高效液相色谱仪, 配紫外检测器; 色谱柱: Agilent Porshell 120 EC-C_{18} (4.6 mm×150 mm, 4 μm); 流动相: A 相: 乙酸钠溶液(pH 6.0)、B 相: 甲醇; 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 35 ℃; 检测波长: 245 nm; 进样体积: 5 μL。流动相洗脱梯度见表 1。

表 1 流动相洗脱梯度

Table 1 Mobile phase gradient elution

时间	A 相/%	B 相/%
0	90	10
7.0	40	60
10.0	5	95
13.0	5	95
13.5	90	10
18.0	90	10

1.3.5 标准曲线

分别移取盐酸氨基葡萄糖标准中间液依次配制成 0.025、0.050、0.100、0.150、0.200、0.250 mg/mL 的系列溶液, 按照 1.3.4 色谱条件进行分析, 以盐酸氨基葡萄糖衍生物色谱峰面积为纵坐标(*Y*), 质量浓度为横坐标(*X*, mg/mL), 绘制标准曲线。

1.3.6 计算公式

实验中目标化合物的含量按照公式(1)计算。

$$X=\frac{\rho\times V\times 1000}{m\times 1000} \tag{1}$$

式中: X 为试样中待测组分的含量, mg/kg; ρ 为试样中待测组分的质量浓度, μg/mL; V 为样品的定容体积, mL; m 为试样的称样量, g; 1000 为换算系数。计算结果保留 3 位有效数字。

1.4 数据处理

利用 Excel 2016 进行数据整理分析, 使用 Origin 2021 进行绘图。其中盐酸氨基葡萄糖的检测数据采用自带的仪器控制软件 Agilent OpenLAB Chromatography Data System C.01.07 版进行采集和处理, 以外标法计算结果。

2 结果与分析

2.1 衍生剂的选择

GB/T 20365—2006 中将样品用乙腈-水(1:9, *V*:*V*)溶解并提取后, 在波长 192 nm 测定。盐酸氨基葡萄糖的极性较强, 在 192 nm 处呈最大吸收[26], 此时处于末端吸收, 干扰较多, 灵敏度较低, 通过图 1、2, 能明显看出干扰的存在, 导致定量不准, 会出现结果异常偏高的情况。因此, 考虑选用异硫氰酸苯酯或邻苯二甲醛, 生成稳定衍生物质[29], 在远离紫外末端处呈最大吸收, 满足定量准确的要求。

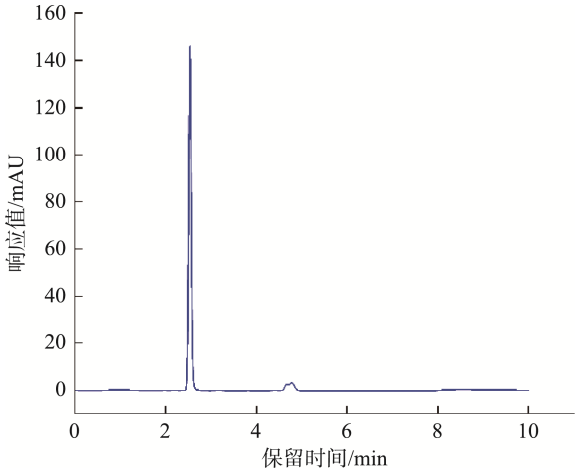


图 1 GB/T 20365—2006 检测盐酸氨基葡萄糖对照品图谱

Fig.1 Chromatogram of the glucosamine hydrochloride reference standard determined by GB/T 20365—2006

2.1.1 邻苯二甲醛衍生

氨基葡萄糖中的氨基酸基团, 与邻苯二甲醛进行亲核反应最终生成席夫碱, 在碱性(pH 10)条件和强还原剂(巯基乙醇)条件下, 生成氨基酸衍生物, 该物质在波长 340 nm 处有吸收。如图 3A 所示, 在空白溶液中相同位置均未出峰, 无干扰, 但空白溶液基线不稳定, 有杂质峰和倒峰出现, 可能是盐酸氨基葡萄糖因极性大且含氨基, 易与检测池壁吸附/解吸附, 干扰光路而出现倒峰和杂质峰[30]。如图 3B 所示, 盐酸氨基葡萄糖在邻苯二甲醛衍生

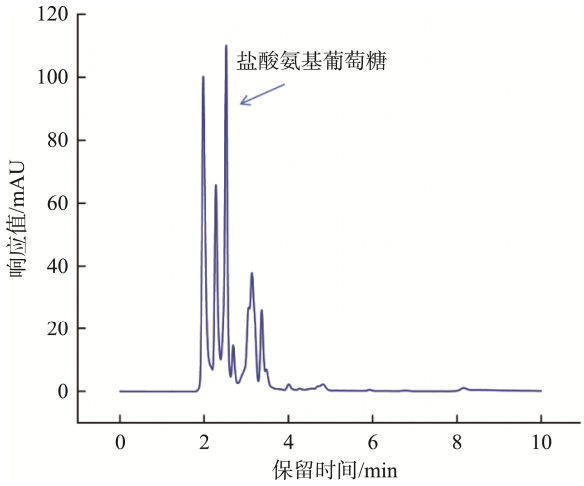


图 2　GB/T 20365—2006 检测保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量图谱

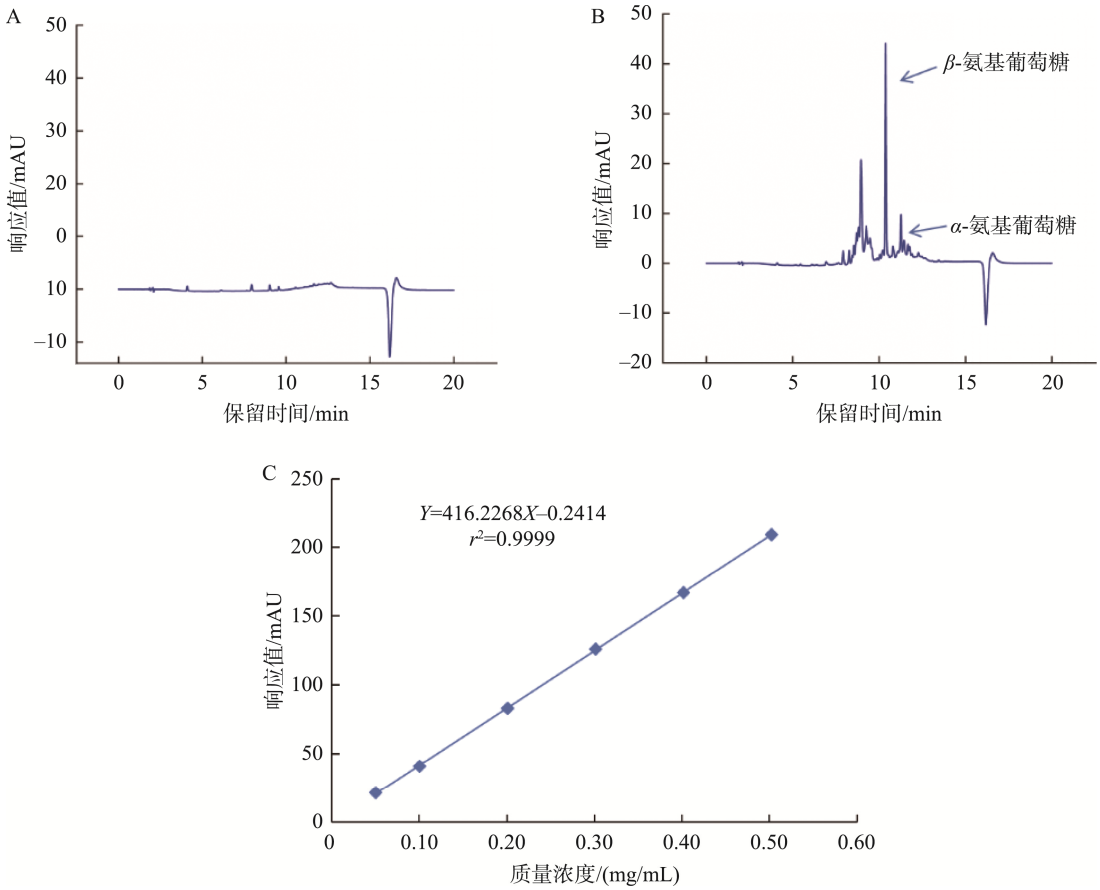
Fig.2　Chromatogram of the glucosamine hydrochloride content in health food determined by GB/T 20365—2006

下形成了 β-异构体和 α-异构体[27], 因此其含量应该用两峰之和计算。同时, 观察色谱图发现, 在 β-异构体和 α-异构体周围有很多杂质峰, 分离度无法满足大于等于 1.0 的要求, 且在前处理过程中无法去除。标准曲线见图 3C, 决定系数(r^2)为 0.9999。

以乳矿物盐氨糖软骨素粉为样品, 使用邻苯二甲醛衍生, 进行盐酸氨基葡萄糖含量检测。结果如表 2 所示, 实验结果与配方理论值相比, 相对偏差为–12.78%、与第三方检测机构检测结果比较, 相对偏差为–5.64%, 均明显偏低。选用邻苯二甲醛作为衍生剂, 盐酸氨基葡萄糖在 25~250 mg/100 g范围内呈良好的线性关系, 但产生的杂质较多, 检测样品含量时会存在明显干扰; 同时, 考虑到经济因素, 该衍生剂价格偏高, 会增加检测成本。综上, 本研究不选用邻苯二甲醛作为衍生剂。

2.1.2　异硫氰酸苯酯衍生

在碱性条件下, 异硫氰酸苯酯与氨基葡萄糖的氨基发生反应, 生成苯氨基硫代甲酰胺的衍生物。该物质在波长 245 nm 处有最大吸收。如图 4 所示, 盐酸氨基葡萄糖在异硫氰酸苯酯衍生下形成了 β-异构体和 α-异构体, 计算含量是按两峰之和计算。



注: A. 空白溶液检测色谱图; B. 标准溶液检测色谱图, 图 4 同; C. 标准曲线。

图 3　邻苯二甲醛衍生效果

Fig.3　Derivatization effects of ortho-phthalaldehyde

表 2 邻苯二甲醛衍生法测定乳矿物盐氨糖软骨素粉中盐酸氨基葡萄糖含量的结果

Table 2 Results of glucosamine hydrochloride content in milk mineral salt glucosamine chondroitin powder determined by ortho-phthalaldehyde derivatization method

组别	含量/(mg/100 g)	相对标准偏差/%
本研究方法	2.93×10^3	/
第三方机构	3.10×10^3	–5.64
配方理论值	3.33×10^3	–12.78

注: /代表此项不作计算, 表 3 同。

以峰面积为纵坐标(Y), 对照品浓度为横坐标(X, mg/100 g), 绘制标准曲线。盐酸氨基葡萄糖在 25~250 mg/100 g 范围内, 所呈线性关系不佳(r^2=0.9762)。当降低含量范围至 10~100 mg/100 g 时, 呈良好线性关系(r^2=1.0000)。根据标准曲线计算结果, 如表 3 所示, 结果与配方理论值、第三方外检结果比较, 相对偏差分别是 7.45%和 0.30%, 符合预期。

选用异硫氰酸苯酯作为衍生剂, 盐酸氨基葡萄糖在 10~100 mg/100 g 范围内呈良好的线性关系, 且基线平稳,

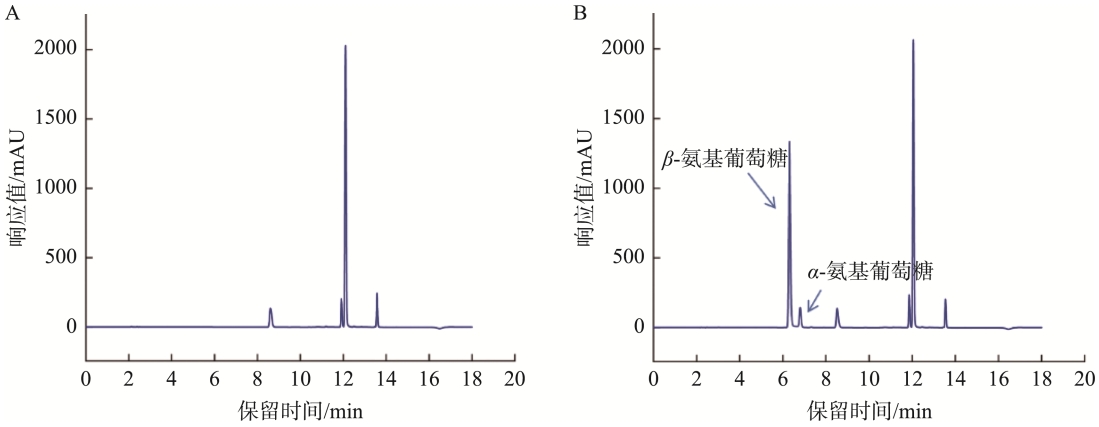


图 4 异硫氰酸苯酯衍生效果

Fig.4 Derivatization effects of phenyl isothiocyanate

表 3 异硫氰酸苯酯衍生法测定乳矿物盐氨糖软骨素粉中盐酸氨基葡萄糖含量的结果

Table 3 Results of glucosamine hydrochloride content in milk mineral salt glucosamine chondroitin powder determined by phenyl isothiocyanate derivatization method

组别	含量/(mg/100 g)	相对偏差/%
本研究方法	3.34×10^3	/
第三方机构	3.10×10^3	7.45
配方理论值	3.33×10^3	0.30

检测样品含量时无明显干扰。郝秀华等[31]利用异硫氰酸苯酯柱前衍生化反相高效液相-紫外测定法, 检测复方制剂中盐酸氨基葡萄糖的含量, 衍生效果良好, 结果准确可靠。从经济方面考虑, 衍生剂价格亲民, 配制使用完后可保存继续使用。因此, 本研究选用异硫氰酸苯酯作为后续检测使用。

2.2 柱前衍生化条件优化

在确认使用异硫氰酸苯酯作为衍生剂, 考察线性范围时发现, 当盐酸氨基葡萄糖质量浓度超过 0.1 mg/mL 时, 异硫氰酸苯酯衍生能力下降, 导致检测含量范围缩小, 不利于检测不同品类乳矿物盐氨糖软骨素粉。因此, 需要优化检测条件, 扩大含量检测范围, 便于实验室检测。

2.2.1 衍生反应时间对衍生效果的影响

分别配制质量浓度为 0.10、0.15、0.20、0.25 mg/mL 溶液, 衍生时间选择 30 min 和 60 min, 观察能否通过延长衍生时间来提高衍生效果。如表 4 所示, 延长衍生时间无法提高衍生能力。

表 4 衍生反应时间对衍生效果的影响

Table 4 Effects of derivatization reaction time on derivatization efficiency

衍生剂添加量/mL	质量浓度/(mg/mL)	衍生时间/min	峰面积之和/mAU	相对偏差/%
1	0.10	30	1853.6	–3.51
		60	1919.8	
5		30	2018.5	2.30
		60	1972.7	
1	0.15	30	1926.7	2.45
		60	1880.0	
5		30	1752.6	3.49
		60	1692.5	
1	0.20	30	1881.4	–0.43
		60	1889.5	
5		30	1658.8	1.57
		60	1632.9	
1	0.25	30	1836.9	–3.61
		60	1904.5	
5		30	1649.1	4.25
		60	1580.5	

2.2.2　衍生剂使用量对衍生效果的影响

分别加入 1 mL 和 5 mL 异硫氰酸苯酯衍生液, 其余条件不发生变化, 分别对质量浓度为 0.10、0.15、0.20、0.25 mg/mL 标准曲线溶液进行配制, 上机测试。结果如表 5 所示, 衍生剂使用量从 1 mL 增加至 5 mL, 分别衍生了 30 min 和 60 min 后, 除质量浓度 0.10 mg/mL 点外, 其余质量浓度点衍生效果并没有得到有效提升。

表 5　衍生剂使用量对衍生效果的影响
Table 5　Effects of derivatizing agent dosage on derivatization effects

衍生剂添加量/mL	质量浓度/(mg/mL)	衍生时间/min	峰面积之和/mAU	相对偏差/%
1	0.10	30	1853.6	8.52
5			2018.5	
1		60	1919.8	2.72
5			1972.7	
1	0.15	30	1926.7	–9.46
5			1752.6	
1		60	1880.0	–10.50
5			1692.5	
1	0.20	30	1881.4	–12.58
5			1658.8	
1		60	1889.5	–14.57
5			1632.9	
1	0.25	30	1836.9	–10.77
5			1649.1	
1		60	1904.5	–18.60
5			1580.5	

2.2.3　磷酸盐缓冲液使用量的选择

根据异硫氰酸苯酯衍生工作原理, 衍生时溶液需要达到碱性条件。盐酸氨基葡萄糖溶于水呈酸性, 需要添加适量的磷酸盐缓冲液调节 pH。分别按磷酸盐缓冲液:异硫氰酸苯酯衍生液为 1.5:1、2:1、3:1、4:1 的不同比例(*V*:*V*), 向标准曲线溶液中添加磷酸盐缓冲液和衍生液, 同时配制标准曲线系列溶液, 上机测试。结果表明, 随着磷酸盐缓冲液和异硫氰酸苯酯衍生液比例的增大, 衍生效果提升, 线性系数(r^2)从 0.96 提高至 0.99, 当缓冲液与衍生液比例为 3:1 (*V*:*V*, 下同), 即加入 3 mL 磷酸盐缓冲液, 使用 1 mL 衍生液衍生 30 min 时, 效果满足要求。

2.2.4　磷酸盐缓冲液与衍生液使用量的确认

根据 2.2.3 确认磷酸盐缓冲液与衍生液需保持 3:1 的比例关系, 但 r^2 仅满足大于等于 0.99。因此, 保持比例, 分别增大使用量至 4.5 mL:1.5 mL 和 6 mL:2 mL, 考察是否能继续提高衍生能力, 结果表明, 磷酸盐缓冲液:异硫氰酸苯酯衍生液为 4.5 mL:1.5 mL 时, r^2 为 0.9994, 而当磷酸盐缓冲液使用量为 6 mL、衍生液使用量为 2 mL 时, r^2 可达 0.9999, 衍生效果最佳。

3　方法学验证

3.1　方法空白

取空白溶液依次注入高效液相色谱仪, 记录色谱图。空白溶液在盐酸氨基葡萄糖主峰位置应未出峰, 空白不干扰检测(图 5)。

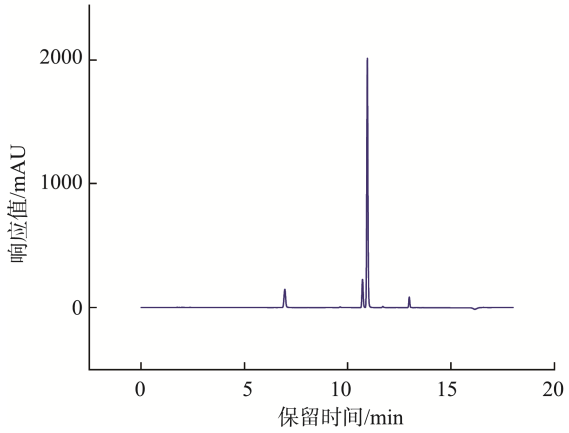


图 5　空白溶液色谱图
Fig.5　Chromatogram of the blank solution

3.2　线性方程及相关系数

精密配制质量浓度为 0.025、0.050、0.100、0.150、0.200、0.250 mg/mL 系列盐酸氨基葡萄糖标准溶液, 经衍生化处理后, 注入高效液相色谱仪进行检测。以盐酸氨基葡萄糖标准工作液各点质量浓度为横坐标(*X*, mg/mL), 以各标准工作液点 *β*-氨基葡萄糖和 *α*-氨基葡萄糖峰面积之和为纵坐标(*Y*, mAU)绘制标准曲线, 线性方程为 Y=32340X+177.87, r^2=0.9993。结果表明, 盐酸氨基葡萄糖在 25~250 mg/100 g 范围内, 与峰面积呈现良好的线性关系。

3.3　检出限和定量限

以信噪比 $S/N\geqslant3$ 和 $S/N\geqslant10$ 计算得到检出限和定量限。结果显示, 盐酸氨基葡萄糖的检出限为 0.0050 mg/mL, 定量限为 0.0100 mg/mL。由于衍生后同时生成 *β*-氨基葡萄糖和 *α*-氨基葡萄糖, 为保证同时能检出, 检出限与定量限均以 *α*-氨基葡萄糖计算。结果表明, 该方法精密度良好, 准确度高。

3.4　方法的加标回收率

分别称取 18 份样品, 每 6 个为一组, 分为 3 组, 每组加入一定量的标准溶液, 按照本方法进行回收率测定。由表 6 可以看出, 3 组加标样品检测重现性良好, 平均回收率为 97.9%~99.9%, 相对标准偏差为 0.50%~0.98%。

3.5　方法精密度

平行配制 6 份供试品溶液依次注入高效液相色谱仪, 记录峰面积, 6 份样品的检测结果相对标准偏差为 0.81%,

满足 GB/T 27417—2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》附录 B 的表 B.1 的要求，说明本研究方法精密度良好。

表 6 加标回收率和相对标准偏差

Table 6 Spike recovery rate and relative standard deviation

理论加入量/(mg/100 g)	实际测得量/(mg/100 g)	回收率/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
1.24×10^3	1.22×10^3	98.5	97.9	0.98
	1.20×10^3	96.5		
	1.23×10^3	99.1		
	1.21×10^3	97.4		
	1.22×10^3	98.4		
	1.21×10^3	97.3		
4.96×10^3	4.96×10^3	99.9	99.9	0.50
	4.91×10^3	99.1		
	4.94×10^3	99.6		
	4.99×10^3	100.6		
	4.96×10^3	100.1		
	4.96×10^3	100.0		
1.24×10^4	1.22×10^4	98.6	98.8	0.82
	1.23×10^4	99.1		
	1.23×10^4	99.3		
	1.24×10^4	99.9		
	1.21×10^4	97.6		
	1.22×10^4	98.3		

3.6 实际样品检测

选取 3 个生产批次的乳矿物盐氨糖软骨素粉保健品样品，采用本研究建立的方法测定其中的盐酸氨基葡萄糖含量，结果见表 7。结果表明，3 个批次样品的测定结果与配方理论值的相对偏差均在 3%以内。

表 7 异硫氰酸苯酯衍生法测定不同批次保健品样品中盐酸氨基葡萄糖含量

Table 7 Determination of glucosamine hydrochloride content in different batches of health food samples by phenyl isothiocyanate derivatization method

批次	本研究方法测定值/(mg/100 g)	配方理论值/(mg/100 g)	相对标准偏差/%
批次 1	3.22×10^3	3.30×10^3	–2.45
批次 2	3.34×10^3		1.20
批次 3	3.25×10^3		–1.53

4 结 论

本研究对两种衍生剂的衍生效果进行测试，并优化了检测条件和步骤，确认了以异硫氰酸苯酯为衍生剂，在碱性条件下衍生后，经 C_{18} 柱分离，在高效液相色谱-紫外检测器 245 nm 下测定保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量的检测方法，改善了以往方法在检测保健食品中盐酸氨基葡萄糖过程中准确度低、再现性差等问题，可为定量检测保健食品中盐酸氨基葡萄糖提供方法参考。本方法可以提高检测准确度和效率，精密度、稳定性及回收率实验均符合要求，便于实验室检测，为健康食品质量标准研究及安全性研究奠定了基础。本研究暂未涉及其他类型的样品检测，样品类型覆盖较少，还需要进一步研究其适用性。

参考文献

[1] ZHANG T, YANG H, LI G, *et al*. A review on the preparation and synthesis strategies, mechanism and applications of different glucosamine salts and derivatives [J]. Food Bioscience, 2025, 69: 106923.

[2] 迟海林, 李菲菲, 张李伟, 等. 氨基葡萄糖类物质在保健食品中的应用及研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(8): 437–445.
CHI HL, LI FF, ZHANG LW, *et al*. Application and research progress of glucosamine substances in health food [J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(8): 437–445.

[3] 杨建平, 童兴龙, 胡爱珠. 氨基葡萄糖盐酸盐的研制[J]. 海洋通报, 1999, 18(3): 77–81.
YANG JP, TONG XL, HU AIZ. Preparation of glucosamine hydrochloride [J]. Marine Science Bulletin, 1999, 18(3): 77–81.

[4] SHINTANI H, ASHIDA H, SHINTANI T. Shifting the focus of *D*-glucosamine from a dietary supplement for knee osteoarthritis to a potential anti-aging drug [J]. Human Nutrition & Metabolism, 2021, 26: 200134.

[5] PIPERNO M, REBOUL P, HELLIO-LE-GRAVERAND MP, *et al*. Glucosamine sulfate modulates dysregulated activities of human osteoarthritic chondrocytes *in vitro* [J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2000, 8(3): 207–212.

[6] QIU GX, GAO SN, GIACOVELLI G, *et al*. Efficacy and safety of glucosamine sulfate versus ibuprofen in patients with knee osteoarthritis [J]. Arzneimittel-Forschung, 1998, 48(5): 469–474.

[7] BARILLAS-LARA MI, DASILVA-DEABREU A, VENTURA HO. Association of glucosamine supplementation and incidence of heart failure [J]. Mayo Clinic Proceedings, 2023, 98(8): 1118–1120.

[8] PARK J, LEE Y, JUNG EH, *et al*. Glucosamine regulates hepatic lipid accumulation by sensing glucose levels or feeding states of normal and excess [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2020, 1865(10): 158764.

[9] 吕昊坤, 杨腾辉, 吴启赐, 等. 利用斑马鱼肝癌模型探究氨基葡萄糖盐酸盐对肝癌的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(20): 332–340.
LV HK, YANG TH, WU QC, *et al*. Investigation of the effects of glucosamine hydrochloride on liver cancer using a zebrafish liver cancer model [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(20): 332–340.

[10] 江敏. 氨基葡萄糖的药理学研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(17): 1622–1624.
JIANG M. Research progress on pharmacology of glucosamine [J]. China Pharmacy, 2010, 21(17): 1622–1624.

[11] LAI W, ZHOU S, BAI Y, *et al*. Glucosamine attenuates alcohol-induced acute liver injury via inhibiting oxidative stress and inflammation [J].

Current Research in Food Science, 2024, 8: 100699.

[12] FERNÁNDEZ-ROJAS B, GÓMEZ-SIERRA T, MEDINA-CAMPOS ON, *et al*. Antioxidant activity of glucosamine and its effects on ROS production, Nrf2, and O-GlcNAc expression in HMEC-1 cells [J]. Current Research in Toxicology, 2023, 5: 100128.

[13] LOMONTE ABV, MENDONÇA JA, DE-CASTRO-BRANDÃO G, *et al*. Multicenter, randomized, double-blind clinical trial to evaluate efficacy and safety of combined glucosamine sulfate and chondroitin sulfate capsules for treating knee osteoarthritis [J]. Advances in Rheumatology, 2018, 58(1): 41.

[14] WANDEL S, JÜNI P, TENDAL B, *et al*. Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis [J]. BMJ, 2010, 341. DOI: https://doi.org/10.1136/bmj.c4675

[15] 骆治琼. 滴定分析法和分光光度法测定保健食品中 *D*-氨基葡萄糖盐酸盐含量[J]. 化工设计通讯, 2019, 45(7): 111–112.
LUO ZQ. Determination of *D*-glucosamine hydrochloride in health food by titration and spectrophotometry [J]. Chemical Engineering Design Communications, 2019, 45(7): 111–112.

[16] 倪蕾, 林国斌. 保健食品中 *D*-氨基葡萄糖盐酸盐含量的检测[J]. 海峡预防医学杂志, 2007(4): 63–64.
NI L, LIN GB. Determination of *D*-glucosamine hydrochloride content in health food [J]. Strait Journal of Preventive Medicine, 2007(4): 63–64.

[17] 甘宾宾, 刘展华, 黎少豪. HPLC 法测定保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(6): 531–533.
GAN BB, LIU ZH, LI SH. Determination of glucosamine hydrochloride in health food by HPLC method [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2011, 23(6): 531–533.

[18] 卢素格, 王爱月, 张榕杰. 高效液相色谱测定保健食品中盐酸氨基葡萄糖含量[J]. 中国卫生工程学, 2011, 10(6): 499–500.
LU SG, WANG AIY, ZHANG RJ. Determination of glucosamine hydrochloride in health food by high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Public Health Engineering, 2011, 10(6): 499–500.

[19] 郑望升. HPLC 测定盐酸氨基葡萄糖分散片的含量[J]. 中国执业药师, 2012, 9(4): 14–16.
ZHENG WS. Determination of glucosamine hydrochloride in dispersible tablets by HPLC [J]. Chinese Journal of Licensed Pharmacist, 2012, 9(4): 14–16.

[20] 沈丹丹, 曾杰, 王玥, 等. HPLC 测定盐酸氨基葡萄糖有关物质与含量[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(4): 314–318.
SHEN DD, ZENG J, WANG Y, *et al*. Determination of related substances and content of glucosamine hydrochloride by HPLC [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2017, 52(4): 314–318.

[21] 蔡泽宇, 石骏, 杨政芳, 等. HPLC-ELSD 法测定氨糖软骨素中硫酸软骨素和盐酸氨基葡萄糖的含量[J]. 中南药学, 2019, 17(12): 2142–2145.
CAI ZY, SHI J, YANG ZF, *et al*. Determination of chondroitin sulfate and glucosamine hydrochloride in glucosamine chondroitin by HPLC-ELSD [J]. Central South Pharmacy, 2019, 17(12): 2142–2145.

[22] 宫艳艳, 钱亮亮. 高效液相色谱-蒸发光法测定保健品中盐酸氨基葡萄糖的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1336–1340.
GONG YY, QIAN LL. Determination of glucosamine hydrochloride in health food by high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection (HPLC-ELSD) [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(5): 1336–1340.

[23] 张华珺, 张喆, 张蓉. 氨基葡萄糖液相色谱-质谱联用含量测定方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(5): 1148–1150.
ZHANG HJ, ZHANG Z, ZHANG R. Study on the determination method of glucosamine content by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2013, 23(5): 1148–1150.

[24] 石维, 李海涛, 吴秀妮, 等. 保健食品中盐酸氨基葡萄糖与硫酸软骨素的含量测定[J]. 食品安全导刊, 2016(18): 112–113.
SHI W, LI HT, WU XN, *et al*. Determination of glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate in health food [J]. Journal Food Safety Guide, 2016(18): 112–113.

[25] 冯雪萍, 朱银宏, 程倩, 等. 反相离子对色谱法测定保健食品中硫酸软骨素和盐酸氨基葡萄糖[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(2): 186–193.
FENG XP, ZHU YH, CHENG Q, *et al*. Determination of chondroitin sulfate and glucosamine hydrochloride in health food by reversed-phase ion-pair chromatography [J]. China Food Additives, 2022, 33(2): 186–193.

[26] 黄伟乾, 吴俊发, 覃天福, 等. 柱前衍生-高效液相色谱法测定乳及乳制品中 5 种乳糖衍生物[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 46–51.
HUANG WQ, WU JF, QIN TF, *et al*. Determination of 5 kinds of lactose derivatives in milk and dairy products by pre-column derivatization-high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 46–51.

[27] 喻琼, 卢鑫, 黄康惠, 等. 邻苯二甲醛柱前衍生法测定食品中盐酸氨基葡萄糖的含量[J]. 食品科技, 2023, 48(2): 273–279.
YU Q, LU X, HUANG KH, *et al*. Determination of glucosamine hydrochloride in food by O-phthalaldehyde pre-column derivatization method [J]. Food Science and Technology, 2023, 48(2): 273–279.

[28] 王德伟, 叶礼红, 杨祖伟. 反相高效液相色谱柱前在线衍生法测定氨基葡萄糖硫酸钾盐的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(8): 3070–3074.
WANG DW, YE LH, YANG ZW. Determination of glucosamine potassium sulfate by pre-column on-line derivatization reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(8): 3070–3074.

[29] 刘利萍, 章非凡, 张阳, 等. HPLC 测定盐酸氨基葡萄糖的柱前衍生化条件的响应面优化[J]. 营养学报, 2013, 35(4): 387–390.
LIU LP, ZHANG FF, ZHANG Y, *et al*. Response surface optimization of pre-column derivatization conditions for determination of glucosamine hydrochloride by HPLC [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2013, 35(4): 387–390.

[30] 张洁, 马青青, 张欣烨, 等. 反相 HPLC 测定盐酸氨基葡萄糖含量[J]. 环境卫生学杂志, 2015, 5(6): 552–555.
ZHANG J, MA QQ, ZHANG XY, *et al*. Determination of glucosamine hydrochloride by reversed-phase HPLC [J]. Journal of Environmental Hygiene, 2015, 5(6): 552–555.

[31] 郝秀华, 韩丛成, 杨锦竹, 等. 异硫氰酸苯酯柱前衍生化 HPLC 测定盐酸氨基葡萄糖的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 116–119.
HAO XH, HAN CC, YANG JZ, *et al*. Determination of glucosamine hydrochloride by pre-column derivatization with phenyl isothiocyanate and HPLC [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(4): 116–119.

(责任编辑: 蔡世佳　安香玉)