

## 【化学测定方法】

## HPLC - ELSD测定氨基葡萄糖含量

洪专<sup>1,2</sup>, 黄宏南<sup>3</sup>, 许晨<sup>2</sup>, 许建中<sup>2</sup>

(1. 厦门大学生命科学院, 福建厦门 361005;

2. 国家海洋局第三海洋研究所, 福建厦门 361005; 3. 福建省疾病预防控制中心, 福州 350001)

**[摘要]** 目的: 建立氨基葡萄糖含量测定的高效液相色谱分析法。方法: 样品采用高效液相色谱进行测定, 使用 Waters Carbohydrate 色谱柱, 流动相为乙腈 - 水 = 70: 30, 用蒸发光散射检测器 (ELSD) 检测。结果: 方法的进样量线性范围为 2.0 ~ 12.0  $\mu\text{g}$ , 相关系数为 0.9997, 回收率为 96.0% ~ 97.7%。结论: 此法简便、快速、准确, 无需衍生反应, 是测定氨基葡萄糖含量的有效方法, 并可用于硫酸氨基葡萄糖含量的测定。

**[关键词]** 高效液相色谱; 蒸发光散射检测器; 氨基葡萄糖

**[中图分类号]** O657.7<sup>+</sup>2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004 - 8685 (2007) 06 - 1025 - 02

## Studies on determination of glucosamine by HPLC - ELSD

Hong Zhuan<sup>1,2</sup>, Huang Hong-nan<sup>3</sup>, Xu Chen<sup>2</sup>, Xu Jian-zhong<sup>2</sup>

(1. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. The Third Institute of Oceanography of the State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China; 3. Fujian Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou 350001, China)

**[Abstract]** **Objective:** A HPLC method for the determination of glucosamine was developed. **Methods:** The content of glucosamine was determined by HPLC on a water carbohydrate column (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) with acetonitrile - water (70: 30) as mobile phase and ELSD detector. **Results:** The linear range of calibration curve was 2.0 ~ 12.0  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9997$ ), the recovery was 96.0% ~ 97.7%. **Conclusion:** The method is simple, rapid, accurate and without derivation. It is a effective method for determination of glucosamine and can be used for determination of glucosamine sulfate.

**[Key words]** HPLC; ELSD; Glucosamine

氨基葡萄糖是一种天然的氨基单糖, 是软骨基质和滑液中聚氨基葡萄糖的成分。临床上, 氨基葡萄糖具有多种生物活性, 特别在对骨关节炎的预防和治疗上, 不仅具有症状改善作用, 达到与非甾体抗炎药等相同的治疗效果, 而且还有病情控制作用<sup>[1]</sup>, 是预防和治疗骨关节炎的特异性药物, 还是增强免疫功能的健康食品。目前已上市的氨基葡萄糖类物质包括盐酸氨基葡萄糖、硫酸氨基葡萄糖氯化钾 (钠) 复盐和硫酸氨基葡萄糖。Elson - Morgan法是这类物质含量的经典检测法<sup>[2]</sup>, 虽经数十年的改进<sup>[3,4]</sup>, 但操作仍显繁琐。高效液相色谱法是近年来的研究热点, 已有报道采用紫外检测法<sup>[5]</sup>和示差检测法<sup>[6]</sup>进行氨基葡萄糖的分析检测, 但前者需进行柱前衍生化反应, 而后者对环境温度要求较严苛, 具有一定的操作局限性。本实验采用碳水化合物柱进行分离, 蒸发光散射检测器进行检测, 无需衍生化处理, 方法简便、快速、准确, 是测定氨基葡萄糖含量的优势方法。该方法还可以用于硫酸氨基葡萄糖、盐酸氨基葡萄糖及其复盐等含有氨基葡萄糖成份物质的含量测定。

## 1 材料与方法

## 1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 美国产 Waters - Alliance2695型高效液相色谱仪, 配有泵控及自动进样系统; Alltech ELSD800蒸发光散射检测器。

1.1.2 试剂 乙腈为 HPLC级; D - 盐酸氨基葡萄糖对照品 (由中国药品生物制品检定所提供); 水为 Milli - Q超纯水; 硫酸氨基葡萄糖胶囊 (由厦门蓝湾科技有限公司提供)。

## 1.2 色谱条件

色谱柱: Waters Carbohydrate 柱 (250 mm  $\times$  4.6 mm, 4  $\mu\text{m}$ ); 流动相为乙腈 - 水 = 70: 30; 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 28 ; ELSD参数: 载气流速为 3.00 SLPM (L/min), 蒸发管温度为 80 。

## 1.3 氨基葡萄糖标准储备溶液配制

精确称取 119.7 mg D - 盐酸氨基葡萄糖对照品, 用流动相溶解, 最后用流动相准确定容至 100 ml容量瓶中, 此溶液中氨基葡萄糖浓度为 1.00 mg/ml。

## 2 结果与讨论

## 2.1 氨基葡萄糖的色谱图

在本实验色谱条件下, 分别测定硫酸氨基葡萄糖样品和氨基葡萄糖标准液, 得到色谱图 1和色谱图 2。

**[基金项目]** 厦门市重大科技项目 (3502220051025)

**[作者简介]** 洪专 (1970 - ), 男, 在职博士生, 高级工程师, 主要从事海洋天然产物研究。

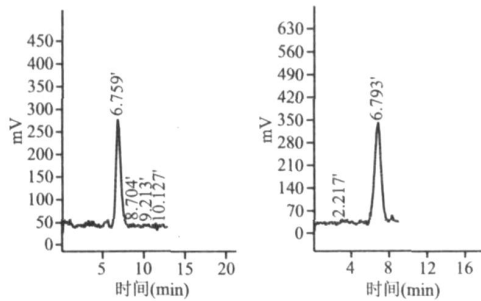


图1 样品色谱图

图2 标准液色谱图

## 2.2 检测限试验

精密量取适量氨基葡萄糖标准储备溶液逐步稀释测定,直到检测获得的氨基葡萄糖主峰信号为检测器噪声水平的3倍为止,得氨基葡萄糖的最低检测限为200 ng。

## 2.3 精密度试验

取适量氨基葡萄糖标准储备溶液注入高效液相色谱仪检测,连续重复进样6次,进行氨基葡萄糖的精密度试验,试验结果RSD为1.64%,精密度符合规定。

## 2.4 线性试验

分别精密吸取氨基葡萄糖标准储备溶液2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 μl进样测定,在本实验色谱条件下进行分析,以峰面积Y对进样量(X, μg)进行线性回归,得线性回归方程为:  $Y = 2.0800 \times 10^6 X - 1.3548 \times 10^6$ ,  $r = 0.9997$ ,结果表明进样量在2.0~12.0 μg范围内,峰面积与进样量线性关系良好。

## 2.5 回收率试验

以硫酸氨基葡萄糖溶液为本底,分别加入适量D-盐酸氨基葡萄糖对照品,进行回收率试验,平均回收率为96.7%,结果见表1。

## 2.6 样品测定结果

取3个批号硫酸氨基葡萄糖样品,称取约0.1 g,精密称定,用流动相溶解,完全转移入100 ml容量瓶中,以流动相稀释至刻度,摇匀,即得供试溶液;在进行氨基葡萄糖标准工作曲线测试后,即取上述供试溶液10 μl注入高效液相色谱仪,按相同色谱条件测定获得色谱峰峰面积积分值,计算供试品

表1 回收率试验结果

本底值 (mg)	加入量 (mg)	测定值 (mg)	回收率 (%)
0.717	0.401	0.385	96.0
0.717	0.819	0.800	97.7
0.717	1.721	1.657	96.3

含量。样品测定结果见表2。

表2 3批样品含量测定结果

样品批号	硫酸氨基葡萄糖含量 (%)
060408	96.38
060412	95.82
060416	96.82

## 【参考文献】

- [1] 戴冽. 氨基葡萄糖治疗骨关节炎的现状 [J]. 中国新药与临床杂志, 2004, 23 (7): 455.
- [2] Elson LA, Morgan WTJ. A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine [J]. Biochem J, 1933, 27: 1824.
- [3] Johnston JP, Ogston AG, Stanier JE. A modification of the elson and morgan method for the estimation of glucosamine [J]. Analyst, 1951, 76: 88.
- [4] 葛许恒. 应用正交试验改进埃尔逊-摩根反应的条件 [J]. 中国药事, 1998, 12 (1): 51.
- [5] Liang ZM, Leslie J, Adebawale A, et al. Determination of the nutraceutical, glucosamine hydrochloride, in raw materials, dosage forms and plasma using pre-column derivatization with ultraviolet HPLC [J]. J Pharmaceutical Biomed Anal, 1999, 20 (5): 807.
- [6] El-Saharty YS, Bary AA. High-performance liquid chromatographic determination of nutraceuticals, glucosamine sulphate and chitosan, in raw materials and dosage forms [J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 462 (1): 125.

(收稿日期: 2007-01-04)

(上接第1015页)

## 2.5 检出限及最低检出浓度 (1.5 L 空气样品计)

丙烯腈为0.4 μg/ml和0.3 mg/m<sup>3</sup>, 甲基丙烯酸甲酯为1.2 μg/ml和0.8 mg/m<sup>3</sup>, 苯乙烯2.7 μg/ml和1.8 mg/m<sup>3</sup>。

## 2.6 解吸效率实验

在6个活性炭管中加入混合标准液, 丙烯腈、甲基丙烯酸甲酯、苯乙烯含量分别为3、200、150 μg (PC-STEEL限值和采样量乘积), 迅速套好密封套, 放置过夜平衡。按照测定方法进行解吸测定, 丙烯腈平均解吸率为90.0%, 甲基丙烯酸甲酯平均解吸率为92.6%, 苯乙烯平均解吸率为80.5%。

## 2.7 穿透容量实验

按<sup>[4]</sup>介绍的方法进行, 丙烯腈、甲基丙烯酸甲酯、苯乙烯的穿透容量 (100 mg) 分别为5.1、0.8、2.3 mg。

## 2.8 干扰实验

现场空气中可能干扰的共存化合物有丙烯酰胺、丁二烯。模拟现场配制50、50 μg/ml的丙烯酰胺、丁二烯, 80、90、100 μg/ml丙烯腈、甲基丙烯酸甲酯、苯乙烯混合标准溶液, 在本实验条件下进行测定, 化合物之间能较好分离, 不相互干扰。

## 3 小结

采用活性炭管吸附工作场所空气中丙烯腈、甲基丙烯酸甲酯、苯乙烯, 由二硫化碳解吸、进样, 经毛细管柱程序升温分离测定, 该方法操作简便、灵敏度高、重现性好、准确可靠, 适用于胶乳工作场所空气中丙烯腈、甲基丙烯酸甲酯、苯乙烯的同时测定。

## 【参考文献】

- [1] GBZ/T160.68-2004. 工作场所空气有毒物质测定 腈类化合物 [S].
- [2] GBZ/T160.64-2004. 工作场所空气有毒物质测定 不饱和脂肪族酯类化合物 [S].
- [3] GBZ/T160.42-2004. 工作场所空气有毒物质测定 芳香烃类化合物 [S].
- [4] 吴萍, 刘金洲. 工作场所空气中醇类化合物异丙醇、丁醇、异戊醇的时间加权平均浓度 (TWA) 测定方法研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15 (10): 1176-1178.

(收稿日期: 2007-01-19)