

# T/GAIA

## 广东省分析测试协会团体标准

T/GAIA XXXX—2024

### 人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法

Determination of Ginsenoside CK by high performance liquid chromatography

(本草案完成时间: 2024/08/08)

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。

2024-XX-XX 发布

2024-XX-XX 实施

广东省分析测试协会 发布

# 目 次

前言 .....	I
引言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 原理 .....	1
5 试剂与材料 .....	1
6 仪器和设备 .....	2
7 试验方法 .....	2
8 结果计算和表述 .....	3
9 精密度 .....	3
附录 A (资料性) 高效液相色谱图 .....	4

## 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。

本文件由广东省分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：广州光亚新汉方化妆品科技有限公司、广东轻工职业技术大学、广州梵之容化妆品有限公司、山东花物堂生物科技有限公司、深圳市护家科技有限公司、广州佳途科技股份有限公司、广东食品药品技术学院、广州市爱百伊生物技术有限公司、广州彦赋生物科技有限公司、广州青囊生物科技有限公司、SGS通标标准技术服务有限公司广州分公司、广州熵增科技有限公司、广东省科学院化工研究所、西北大学、广州天源生物科技有限公司、仲恺农业工程学院、广州天纳生物科技有限公司、广州恒滔贸易有限公司、广东萝薇化妆品股份有限公司、广州中医药大学、中科检测技术服务（广州）股份有限公司、暨南大学分析测试中心、诺德溯源（广州）生物科技有限公司、普萃超临界（广东）高新技术有限公司。

本文件主要起草人：张静茵、吴少微、徐单单、岑水斌、李安章、侯森、张晔翔、叶进明、吴轩民、冯伟钊、梁大成、罗海英、李欢铃、高莉英、陈章、梁静怡、冯磊、吴学明、黄访、钟双江芮、苏秋萍、黄淋佳、刘庆超、杨晓阳、马亚、毛宇、何丽娜、梁铿、黄犟兵、王青娇、樊宝莲、黄铖、杨丽丽、郭涛、陈慧、黄悠然、郑荣杰、郭文姣、李伟明。

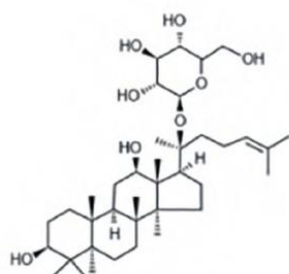
# 引 言

## 0.1 人参稀有皂苷 (rare ginsenosides in ginseng)

人参稀有皂苷是指天然不存在的人参皂苷或在人参、西洋参中含量低于人参总皂苷5%的其他人参皂苷，包括人参稀有皂苷F2、20(*S*)-Rg3、20(*R*)-Rg3、Rk1、Rg5、20(*S*)-Rh2、20(*R*)-Rh2、Rk2、Rh3、20(*S*)-Rg2、20(*R*)-Rg2、Rg4、Rg6、20(*S*)-Rh1、20(*R*)-Rh1、Rh4、Rk3和CK。

## 0.2 人参皂苷CK的基本信息和结构式

人参皂苷CK的化学结构通式为：



分子通式： $C_{36}H_{62}O_8$ ；相对分子质量622，化学名称：20-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-达玛-24-烯-3 $\beta$ , 12 $\beta$ , 20*S*-三醇。CAS号：39262-14-1，人参皂苷CK易溶于甲醇、乙醇，可溶于水，不溶于乙醚、苯。

## 0.3 产品分类

人参皂苷CK按照产品形态分为液体产品和粉末状产品两类。

# 人参皂苷 CK 的含量测定

## 高效液相色谱法

### 1 范围

本标准规定了测定人参皂苷CK含量的高效液相色谱法。  
本标准适用于不同纯度或来自不同制备工艺的人参皂苷产品及其制品中人参皂苷CK含量的测定。

### 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 26792 高效液体色谱仪  
中华人民共和国药典 四部  
GB/T 41726-2022 人参单体皂苷鉴定及检测方法  
GB/T 16631-2008 高效液相色谱法通则  
GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定  
T\_CNHFA 001-2021 人参稀有皂苷的含量测定

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

人参皂苷CK：从五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根及根茎经加工、转化和纯化制成的皂苷单体。

### 4 原理

人参皂苷及其制品试样用甲醇超声振荡溶解，过滤后注入高效液相色谱仪进行分离，采用紫外检测器检测，通过比较样品与标准样品的保留时间来识别人参皂苷CK，并用外标法进行定量。

### 5 试剂与材料

#### 5.1 试剂

- 5.1.1 水：GB/T 6682 所规定的一级水。  
5.1.2 乙腈（CH<sub>3</sub>CN）：质谱纯。  
5.1.3 甲醇（CH<sub>3</sub>OH）：质谱纯。

#### 5.2 标准品

人参皂苷CK标准品：质量分数≥98%，CAS号：39262-14-1。

#### 5.3 标准溶液制备

5.3.1 人参皂苷CK标准溶液（1.000 mg/mL）：准确称取25 mg（精确至0.01 mg）人参皂苷CK标准品至25 mL容量瓶中，加入适量甲醇溶解，继续加入甲醇至刻度线，超声振荡10 min，摇匀，用0.22 μm有机滤膜过滤，得到浓度为1.000 mg/mL标准品溶液，置于4℃下密封可贮藏一个月。

5.3.2 人参皂苷CK标准工作液：分别吸取0.50, 1.00, 2.50, 5.00 mL人参皂苷CK标准溶液到10 mL

容量瓶中，用甲醇定容，得到浓度分别为 0.0500, 0.1000, 0.2500, 0.5000, 1.000 mg/mL 的系列标准溶液。

## 6 仪器和设备

- 6.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。
- 6.2 分析天平：感量 0.0001 g 和 0.000 01g。
- 6.3 精密移液器。
- 6.4 真空脱气装置或类似设备。
- 6.5 有机微孔滤膜：0.45  $\mu\text{m}$  和 0.22  $\mu\text{m}$ 。
- 6.6 超声处理器。

## 7 试验方法

### 7.1 样品制备

7.1.1 称样：人参皂苷 CK 含量大于或等于 10% 的固体粉末试样称取 0.2 g~0.5 g（精确至 0.0001g）；含量小于 10% 的液体试样称取 2 g~10 g（精确至 0.0001g），对于人参皂苷 CK 含量更低的样品可适当增加称样量。

7.1.2 提取：称好的试样转至 25 mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度线，超声振荡 30 分钟，摇匀，用 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜过滤，即得测试溶液。

### 7.2 测定

#### 7.2.1 色谱参考条件

优化仪器工作条件，使测试样品和标准品中各组分得到满意的色谱分离，以下色谱条件供参考：

- a) 色谱柱：建议使用双封端的 C18 色谱柱（250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ）或等效色谱柱。色谱柱的新旧程度和使用情况、填料填装状态以及温度会影响各组分的分离；
- b) 流动相：A 相为乙腈，B 相为水，梯度洗脱条件见表 1；
- c) 检测器：紫外检测器；
- d) 检测波长：203 nm；
- e) 流速：1 mL/min；
- f) 柱温：30  $^{\circ}\text{C}$ ；
- g) 进样量：20  $\mu\text{L}$ 。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

时间 (min)	A (%)	B (%)
0	19.0	81.0
9.00	32.0	68.0
20.0	57.0	43.0
29.0	90.0	10.0
35.0	19.0	81.0

#### 7.2.2 标准曲线的绘制

将系列人参皂苷 CK 标准工作液分别注入高效液相色谱仪，依次按上述推荐色谱条件上机，以保留时间定性，测得相应的峰面积；以标准工作液的质量浓度为横坐标，以被测组分的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

#### 7.2.3 试样溶液的测定

按外标法将试样溶液注入高效液相色谱仪中，以保留时间定性，测得相应的峰面积，根据标准曲线得到试样待测液中人参皂苷 CK 的质量浓度。若浓度超出标准曲线的范围，可通过增加称样量或者稀释的方式使浓度落在标准曲线范围内。人参皂苷 CK 标准品和样品的高效液相色谱图参见附录 A。

## 8 结果计算和表述

试样人参皂苷CK的含量  $X$  按式 (1) 计算。

$$X = \frac{c \times V}{1000 \times m} \times 100 \times d \quad (1)$$

式中：

$X$ —试样中人参皂苷CK的含量，单位为克每100克 (g/100g)；

$c$ —标准工作溶液测得被测组分溶液浓度，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；

$V$ —试样溶液定容体积，单位为毫升 (mL)；

$m$ —试样的质量，单位为克 (g)；

$d$ —稀释倍数，单位为1；

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测试结果的算术平均值表示，保留三位有效数字；含量低于1 g/100g时保留两位有效数字。

## 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术平均值的5%。

附录 A  
(资料性)  
高效液相色谱图

人参皂苷CK标准品和样品的液相色谱图见图 A.1和图 A.2。

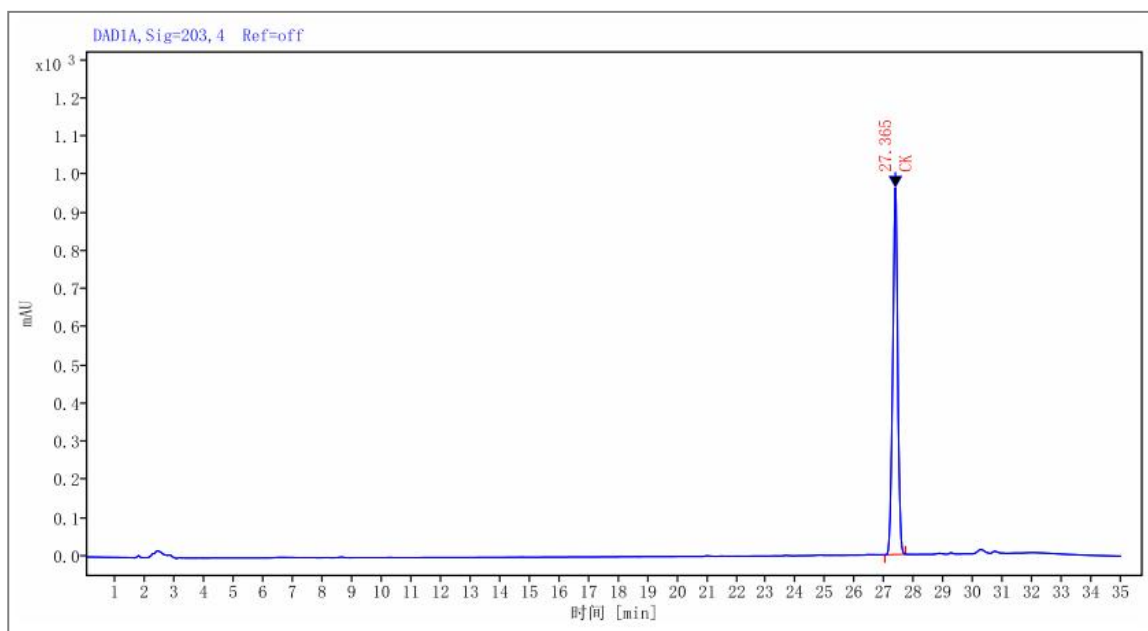


图 A.1 人参皂苷 CK 标准品的液相色谱图

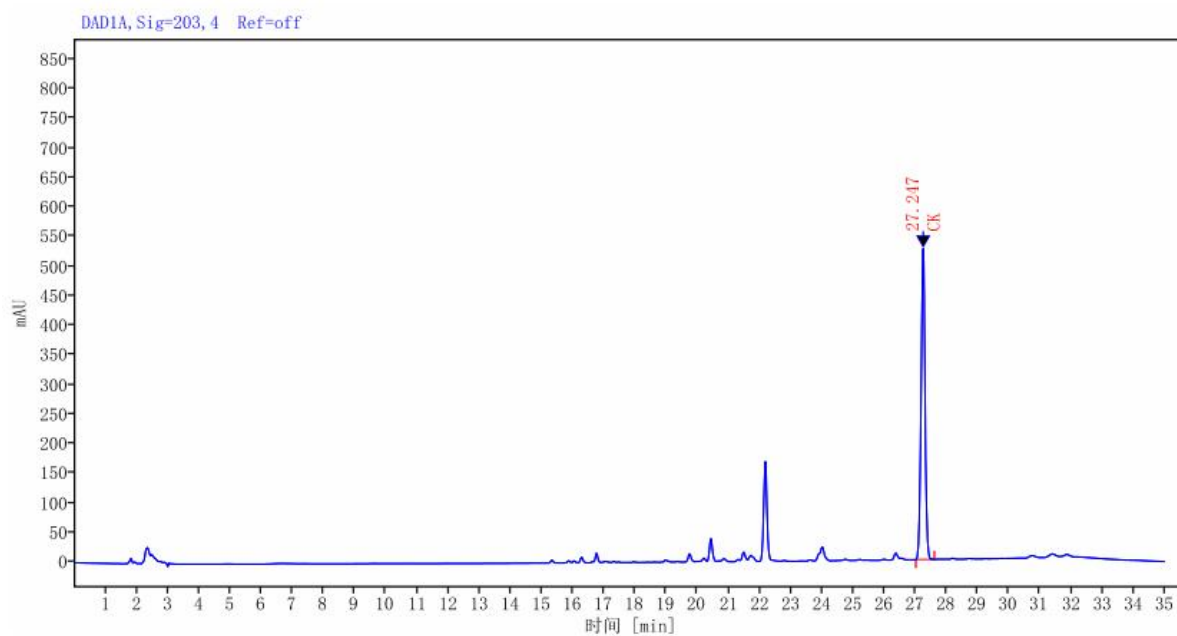


图 A.2 人参皂苷 CK 样品的液相色谱图