

广东省分析测试协会团体标准
《人参皂苷CK的含量测定 高效液相色谱法（征
求意见稿）》
编制说明

《人参皂苷CK的含量测定 高效液相色谱法》编制组

2024年 8月

目 录

1 项目背景	1
1.1 必要性、目的及意义	1
1.2 检测方法研究	1
1.3 现行的人参皂苷CK检测标准方法	1
2 标准起草工作简况	2
2.1 任务来源	2
2.2 主要工作过程	2
2.3 主要参加单位和工作组成员	3
3 标准编制原则和技术路线	3
3.1 标准编制原则	3
3.2 标准的适用范围	4
3.3 标准制订的技术路线	4
3.4 标准解决的主要问题	5
4 方法的技术研究	5
4.1 方法研究的目标	5
4.2 方法原理	5
4.3 试剂	5
4.4 仪器和材料	5
4.5 样品	6
4.6 分析方法优化	6
4.7 试验方法	7
4.8 定性分析	8
4.9 定量分析	9
4.10 目标物浓度的计算	9
4.11 校准曲线	9
4.12 检出限及定量下限	9
4.13 方法精密度	10
4.14 方法准确度	12
4.15 典型样品检测结果及精密度	15
5 方法验证及实际样品测试	15
5.1 方法验证单位	15
5.2 测试要求	15
5.3 方法验证过程	16
5.4 验证结果	16
6 与现行相关法律、法规和强制性标准的关系	21
7 重大分歧意见的处理经过和依据	21
8 产业化情况、推广应用论证和预期达到的经济效果等情况	21
8.1 预期的社会效益	21
8.2 贯彻实施标准的要求和措施建议	21
9 附件材料（方法验证报告及实际样品测试报告）	21
10 其他应予说明的事项	21

1 项目背景

1.1 必要性、目的及意义

稀有人参皂苷CK被发现具有光保护、抗衰老、保湿和抗炎等多种美容护肤方面的作用，并具有广泛的药理学活性。人参皂苷CK还被发现具有抗炎、抗动脉粥样硬化、抗糖尿病和神经保护等作用以及促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞侵袭转移和诱导肿瘤细胞周期阻滞等多重抗肿瘤作用。

申报《人参皂苷CK的含量测定 高效液相色谱法》团体标准，制定人参皂苷CK的试验方法，可用于指导人参皂苷CK为标志性成分的人参皂苷产品的质量判定，有利于以人参皂苷CK为标志性成分加工普通食品、保健食品、化妆品原料及其制品的质量控制和市场监管。编制使用高效液相色谱法直接测定人参皂苷CK含量的团体标准对人参皂苷CK的原料生产及其制品品质控制及配方开发都具有重要的意义。

1.2 检测方法研究

高效液相色谱法具有直观，快速的优点，目前，大多数情况下采用示差折光指数检测器（RID）、蒸发光散射检测器(ELSD)这两种通用型检测器，两者与紫外检测器(UVD)相比灵敏度、重现性较差，且线性范围较窄。对于大多数高效液相色谱仪来说，紫外检测器是基本配置。因此，建立适用于紫外检测器的新方法在实际应用上更有意义。

1.3 现行的人参皂苷CK检测标准方法

1) 国家标准《GB/T 41726-2022 人参单体皂苷鉴定及检测方法》：此标准提供人参皂苷CK单体的基本结构信息及鉴定与检测方法，规定了高效液相色谱法定量检测人参皂苷CK单体纯品的色谱柱规格、流动相、检测器和检测波长等分析条件和结果计算。具体地，标准推荐使用色谱柱以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，规格为250 mm×4.6 mm，5 μm；流动相为乙腈：水=47：53；检测波长=203 nm，柱温30℃；检测结果去除溶剂峰，采用面积归一化法计算结果。此方法用于鉴定与定量检测纯度≥95%的人参皂苷单体，不适用存在其他人参皂苷单体且纯度低于95%的样品。

2) 农业标准《NY/T 1842-2010 人参皂苷的测定》：此标准应用高效液相色谱方法测定人参中9种人参皂苷，包括Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd、Re、Rg1、Rg2和Rf的测定，方法检测的样品是人参。标准中人参皂苷标准品用甲醇溶解，工作曲线范围为0.40 g/L~1.68 g/L、配好的标准甲醇溶液贮存在-18℃以下冰箱中，有效期6个月。标准推荐使用C18（300 mm×4.6 mm，5 μm；

流动相为甲醇+水（梯度洗脱，总时长84 min）；检测波长=202 nm，柱温47 °C；检测结果采用外标法计算结果。此法中流动相甲醇的截止波长是210 nm，在短波长下运行梯度洗脱程序会导致基线波动与基线漂移都非常严重，不利于检测。另外，方法中需从人参干样中用甲醇回馏提取8 h，再用SPE C18柱净化处理，检测周期长，费时费力，且方法未体现人参皂苷CK的含量测定。

3) 团体标准《T/CNHFA 001-2021 人参稀有皂苷的含量测定》：此标准检测的样品是人参、西洋参及其制品，采用高效液相色谱方法测定人参、西洋参及其制品中人参稀有皂苷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的含量。方法是从人参、西洋参及其制品中用甲醇超声提取、浓缩、石油醚脱脂，蒸干；再用AB-8大孔吸附树脂柱进行净化，收集70%~75%乙醇洗脱液用于样品检测。标准中人参皂苷标准品工作曲线范围为0.2 g/L~1.2 g/L，推荐使用C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm；流动相为乙腈-水（梯度洗脱，总时长85 min）；检测波长=203nm，柱温35°C。方法中检测结果计算有两个计算公式不易解读，分析步骤繁琐，且不是直接测定人参皂苷CK含量的方法。

2 标准起草工作简况

2.1 任务来源

本项目由广东省分析测试协会立项，立项编号：GAIA/JH20230203。项目名称“人参皂苷CK的含量测定 高效液相色谱法”。

2.2 主要工作过程

标准编制项目于2023年12月获得立项，2023年12月开始征集遴选参编单位，2024年3月成立标准起草工作组。3月工作组对当前人参皂苷CK的现状与发展情况进行全面调研，同时广泛搜集和检索了国内外相关厂家资料，并进行了大量的研究分析、资料查证工作。4月由广州光亚新汉方化妆品科技有限公司与广东轻工职业技术大学检测中心共同对标准的测试方法进行方法学研究，优化实验条件，最终确定了测试方法。5月所有参编单位开始对标准方法进行方法确认，经实验验证，标准方法快速，简便，稳定性、重复性、回收率均表现良好。7月经编制小组相关单位专家研讨后，对标准草案初稿进行了认真的修改，于2023年8月形成标准征求意见稿，报广东省分析测试协会秘书处。

2.3 主要参加单位和工作组成员

主要起草单位：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。

协作单位：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）生物科技有限公司和普萃超临界（广东）高新技术有限公司。

工作组成员：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、黄犇兵、王青娇、樊宝莲、黄铖、杨丽丽、郭涛、陈慧、黄悠然、郑荣杰、郭文姣和李伟明。

工作分工：张静茵任工作组组长，主持与全面协调工作并保障项目实施的经费和组织实验验证单位；吴少微为本标准执笔人，负责本标准的起草及编写编制说明；负责实施方法开发、方法确认验证实验以及指导各实验验证单位处理有关技术问题；岑水斌负责推进项目实施，遴选和组织实验验证单位；罗海英负责项目审核。参编单位的李安章、侯森、杨丽丽、黄铖、黄悠然、马亚、李欢玲负责对本团体标准进行方法确认实验；徐单单、张晔翔、吴轩民、叶进明、冯伟钊、郭涛、梁大成、高莉英、陈章、梁静怡、冯磊、吴学明、黄访、陈慧、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、黄犇兵、王青娇、樊宝莲、黄铖、杨丽丽、黄铖、郭涛、陈慧、黄悠然、郑荣杰、郭文姣和李伟明等负责对国内外相关试验方法技术的现状与发展情况进行全面调研，进行研究分析、资料查证并提供相关市场信息和技术支持。

3 标准编制原则和技术路线

3.1 标准编制原则

编制小组本着先进性、科学性、合理性和可操作性的原则来进行本标准的制定工作。

本文件起草过程中，主要按GB/T1.1—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》进行编写。该标准制定过程中主要参考了以下标准或文件：

GB/T 6682 分析实验室用水 规格和试验方法

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

GB/T 41726-2022 人参单体皂苷鉴定及检测方法

3.2 标准的适用范围

本标准规定了采用高效液相色谱法测定人参皂苷CK含量的方法。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。

3.3 标准制订的技术路线

标准制定技术路线如图1所示：

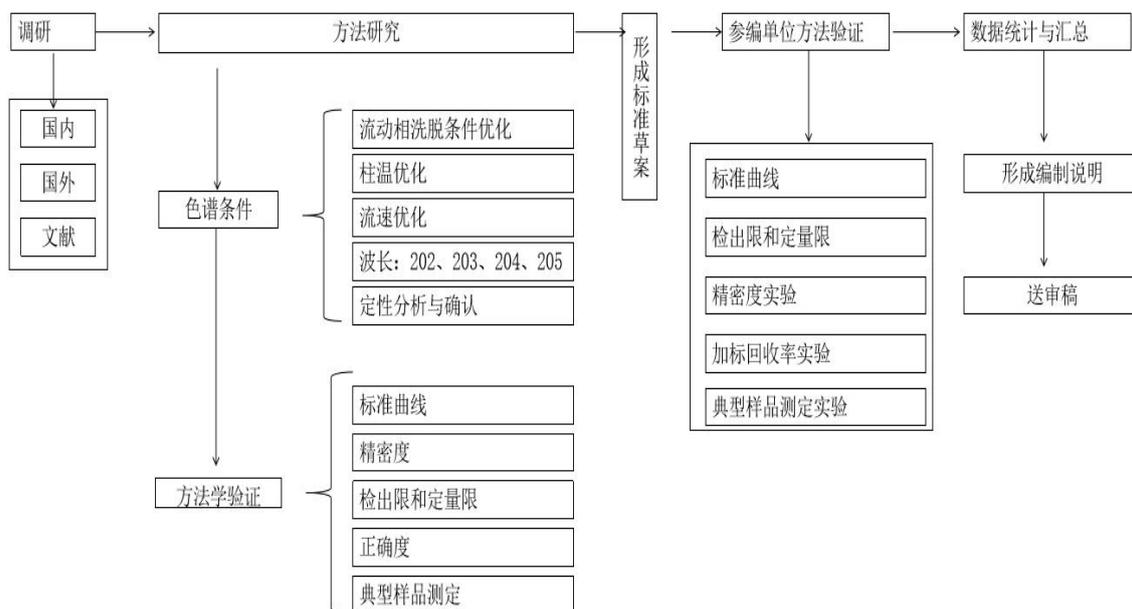


图1 标准制定技术路线

3.4 标准解决的主要问题

本标准部分参考了企业的测试方法，以此作为依据，充分纳入和反映了当前主要生产与加工制造企业及检测机构对人参皂苷CK含量测试的需求，对规范人参皂苷CK市场，指导生产与应用开发，提高产品的质量具有十分重要的作用。

4 方法的技术研究

4.1 方法研究的目标

建立了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含量的测定的高效液相色谱法。

4.2 方法原理

样品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品的保留时间来识别人参皂苷CK，并用外标法进行定量。

4.3 试剂

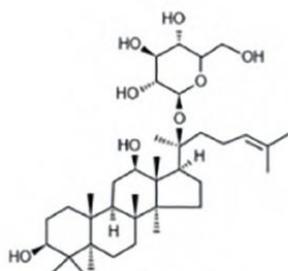
- 1) 水：GB/T 6682 所规定的一级水；
- 2) 乙腈：色谱纯；
- 3) 甲醇：色谱纯；
- 4) 人参皂苷CK标准样品：纯度 $\geq 98\%$ 。

4.4 仪器和材料

- 1) 分析天平：精度 0.0001g和 0.00001g；
- 2) 高效液相色谱仪：配有梯度洗脱系统和紫外检测器；
- 3) 真空脱气装置或类似设备：用于流动相脱气及过滤；
- 4) 有机微孔滤膜：0.45 μm 和0.22 μm ，用于过滤流动相，标准品及样品溶液；
- 5) 超声波振荡仪；
- 6) 容量瓶：25 mL，10 mL；
- 7) 移液管：10 mL，或者经计量较准的移液器（20 μL -200 μL 和100 μL -1000 μL ）；

4.5 样品

人参皂苷CK的化学结构通式为：



分子通式： $C_{36}H_{62}O_8$

4.5.1 样品分类

按照产品形态分为液体产品和固体产品两类。

4.5.2 样品的制备

准确称取试样（固体样品量 0.2~0.5 g，液体样品量 2~10 g，精确至 0.0001g）至 25mL 容量瓶中，加入甲醇至刻度线，超声振荡 30 分钟，摇匀，用0.22 μm 有机滤膜过滤，即得测试溶液。

4.6 分析方法优化

4.6.1 流动相优化及检测波长

根据现有标准人参皂苷CK只有在近紫外波长才有较强的吸收，203nm 是比较合适的波长。但大多数流动相在短波长也有吸收，因此必须筛选在近紫外区吸收小的流动相以减少本底吸收。反相流动相中的有机溶剂一般使用甲醇或乙腈。甲醇的截止波长是 210nm，在短波长下运行梯度洗脱程序会导致基线波动与基线漂移都非常严重，不利于检测，因此有机溶剂选择了截止波长更低的乙腈，水相选择了水。通常人参皂苷CK产品的成分非常复杂，可能会含有其他人参皂苷单体，用梯度洗脱方法更为合适。

按色谱条件测试得到人参皂苷标准品及实际样品的典型色谱图，见图 2和图 3，从图中可以看到各种人参皂苷单体完全分离，且无杂质干扰，满足分析要求。另外，在该方法条件下分析含15种以上稀有人参皂苷单体皂苷样品，人参皂苷单体CK与其他皂苷单体分离较好，无重叠；

进一步采用高效液相色谱-质谱联用法分析，与标准品对比，进一步确认目标峰为人参皂苷CK且无其他干扰成分。

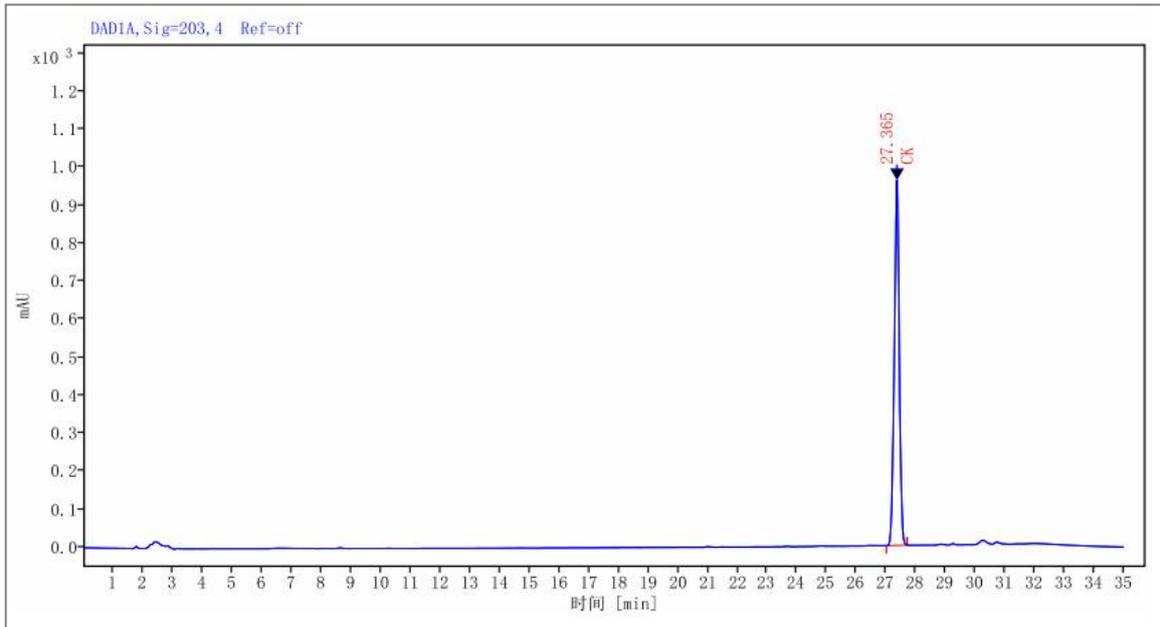


图 2 人参皂苷CK标准品色谱图

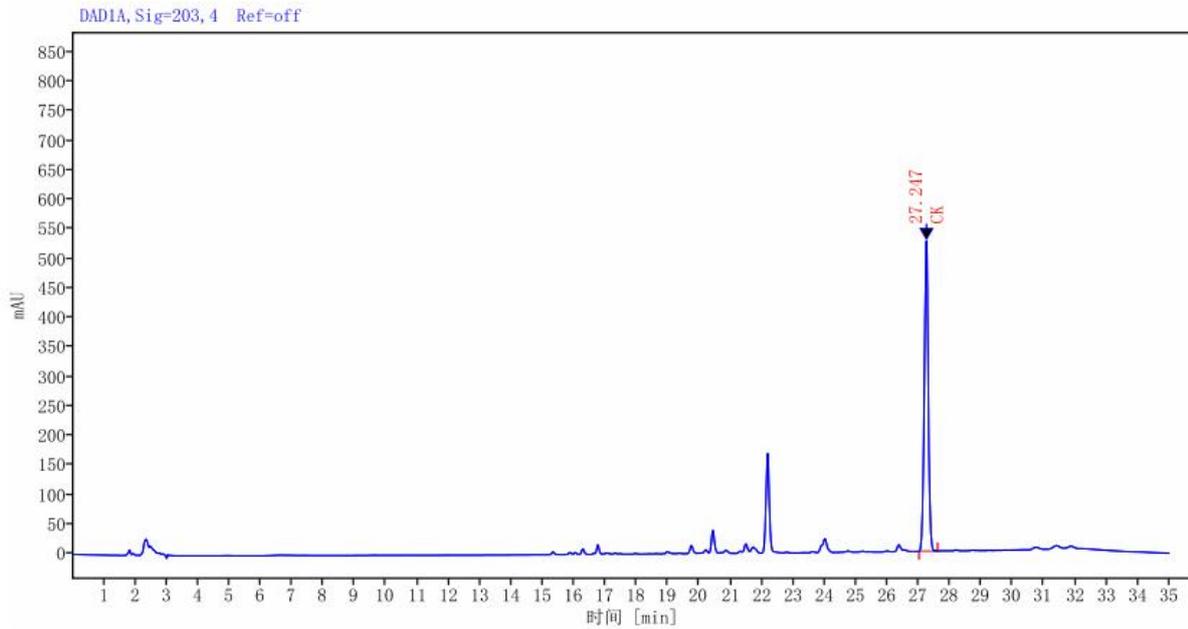


图 3 样品中人参皂苷CK色谱图

4.7 试验方法

4.7.1 色谱条件

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：

1) 色谱柱：建议使用双封端的 C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）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。

2) 流动相：A 相为乙腈，B 相为水；

3) 检测器：紫外检测器；

4) 检测波长：203 nm；

5) 流速：1 mL/min；

6) 柱温：30 °C；

7) 进样量：20 μL；

4.7.2 梯度洗脱程序

建议的洗脱程序见表 1，可根据色谱柱规格型号进行调整。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	乙腈A (%)	水B (%)
0.00	19	81
9.00	32	68
20.00	57	43
29.00	90	10
35.00	19	81

4.8 定性分析

根据试验方法设置仪器色谱条件参数，使用至少 20 倍柱体积流动相平衡色谱柱，紫外检测器预热至少 15min，待液相色谱系统基线稳定后，分别注入 20μL 标准溶液和样品溶液，通过比较试样和标准溶液中人参皂苷CK的保留时间进行定性。

4.9 定量分析

按外标法以色谱峰面积定量。在标准曲线范围内，峰面积与浓度呈线性关系，要求线性相关系数在 0.999 以上。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。

4.10 目标物浓度的计算

人参皂苷CK的含量按公式（1）计算：

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

式中：

X ——样品中人参皂苷CK的含量，单位为克每100克（g/100g）；

c ——样品中CK的浓度，根据标准曲线计算得到的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

V ——甲醇溶解样品的体积，单位为毫升（mL）；

m ——样品的质量，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。

4.11 校准曲线

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，加入适量甲醇溶解人参皂苷CK，继续加甲醇至容量瓶刻度线，超声振荡 10 分钟，摇匀，用0.22 μm有机滤膜过滤，得到浓度为1 mg/mL标准样品溶液。分别吸取0.50, 1.00, 2.50, 5.00 mL 标准品溶液（1000 mg/L）到 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容。将浓度分别为0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 mg/L的系列标准溶液注入高效液相色谱仪测试，以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

得到的线性方程为 $y = 8862.6062x - 48.3397$ ，相关系数为0.99996。

4.12 检出限及定量下限

本实验室以信噪比（S/N）≥3 时的浓度作为检出限，以（S/N）≥10 时的浓度作为定量限。当仪器信噪比（S/N）约为3和10时，人参皂苷CK标准品浓度分别为0.1 mg/L和0.33 mg/L，对于

人参皂苷CK含量大于10%的样品，称样量为0.2 g时，人参皂苷CK检出限和定量限分别为1.2 mg/100g和4.1 mg/100g；对于人参皂苷CK含量小于10%的样品，称样量为2 g时，人参皂苷CK检出限和定量限分别为0.1 mg/100g和0.4 mg/100g。

4.13 方法精密度

表2 不同浓度水平精密度试验(n=8)

人参皂苷CK	平行	保留时间RT/min			含量/(mg/mL)		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
样品1	1	27.173	27.184	0.02	0.0406	0.0408	0.56
	2	27.176			0.0407		
	3	27.179			0.0408		
	4	27.189			0.0412		
	5	27.191			0.0411		
	6	27.185			0.0406		
	7	27.188			0.0407		
	8	27.188			0.0407		
样品2	1	27.222	27.228	0.01	0.252	0.253	0.47
	2	27.230			0.255		
	3	27.228			0.252		
	4	27.230			0.252		
	5	27.232			0.254		
	6	27.229			0.254		
	7	27.226			0.252		
	8	27.230			0.253		
样品3	1	27.245	27.256	0.08	0.518	0.524	2.21

	2	27.263			0.526		
	3	27.310			0.501		
	4	27.247			0.542		
	5	27.244			0.529		
	6	27.250			0.529		
	7	27.247			0.524		
	8	27.244			0.524		
	样品4	1			27.302		
2		27.301	1.052				
3		27.363	1.068				
4		27.318	1.098				
5		27.309	1.029				
6		27.308	1.055				
7		27.317	1.093				
8		27.301	1.045				

本实验室采用低、中1、中2和高四个浓度水平的样品加标进行精密度测试，按实验方法进行 8 次平行测定，计算人参皂苷CK的保留时间和浓度含量的 RSD 值，得到保留时间的 RSD 在 0.02%-0.08%之间，含量的 RSD 在 0.00%-0.32%之间，精密度均低于 0.4%，说明方法的精密度良好，满足方法要求，实验结果见表 2。

选取两个样品从称量开始进行精密度测试，按实验方法，平行测定8 次，计算人参皂苷CK的保留时间和含量的 RSD 值，得到保留时间的RSD分别为0.02%和0.06%，人参皂苷CK含量的 RSD分别为2.01%和4.25%，精密度均低于5%，说明方法的精密度良好，满足方法要求，实验结果见表3。

表3 不同含量样品精密度试验(n=8)

人参皂苷CK	平行	保留时间RT/min			含量/(g/100g)		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
样品1	1	27.284	27.276	0.02	0.0947	0.0939	2.01
	2	27.286			0.0938		
	3	27.275			0.0947		
	4	27.275			0.0942		
	5	27.275			0.0894		
	6	27.275			0.0952		
	7	27.277			0.0947		
	8	27.274			0.0938		
样品2	1	27.361	27.341	0.06	53.05	49.96	4.25
	2	27,360			49.81		
	3	27.359			48.50		
	4	27.336			46.84		
	5	27.333			50.29		
	6	27.329			50.89		
	7	27.325			48.01		
	8	27.326			52.27		

4.14 方法准确度

本实验室对 5 个样品进行低、中、高 5 个不同浓度水平的样品进行加标实验，按照上述方法处理样品，并测定含量，计算加标回收率及相对标准偏差，结果见表 4。加标回收率范围为 97.2-102.5%，RSD 均小于 3%，可见该方法回收率高，重复性好。

表 4 加标实验结果

人参皂苷CK	样品测值 /(mg/mL)	平行	加标量 (uL)	加标测定值/(mg/mL)	加标回收率 (%)
样品1	0.065	1	100	0.127	99.50
		2		0.126	97.51
		3		0.127	99.00
		4		0.129	101.28
		5		0.128	100.60
		6		0.127	99.10
	平均加标加标回收率 (%)			99.50	
	RSD (%)			1.33	
	样品2	0.1014	1	100	0.1643
2			0.1641		102.53
3			0.1643		100.54
4			0.1641		100.23
5			0.1643		100.54
6			0.1641		100.23
7			0.1643		102.85
平均加标加标回收率 (%)			101.15		
RSD (%)			1.19		
样品3	0.260	1	300	0.407	99.40
		2		0.411	101.39
		3		0.407	98.71
		4		0.411	100.70

		5		0.407	98.61
		6		0.411	100.60
	平均加标加标回收率 (%)			99.50	
	RSD (%)			1.16	
样品4	0.538	1	500	0.685	97.71
		2		0.689	98.90
		3		0.701	101.28
		4		0.701	101.28
		5		0.701	101.99
		6		0.701	101.99
	平均加标加标回收率 (%)			100.53	
	RSD (%)			1.78	
样品五	0.906	1	800	0.954	104.48
		2		0.959	105.97
		3		0.955	104.78
		4		0.955	104.78
		5		0.954	103.75
		6		0.954	104.58
	平均加标加标回收率 (%)			104.72	
	RSD (%)			0.69	

4.15 典型样品检测结果及精密度

典型样品DY1为固体样品含量大于10%，称取约0.2 g（精确至0.0001 g），按方法进行样品处理，稀释10倍；典型样品DY2为固体样品含量小于10%，称取约2 g（精确至0.0001 g）。从称量开始平行实验测试三次，测试结果和精密度见表5。可见典型样品DY1 和DY2的测定结果分别为56.34 g/100g和0.09 g/100g，精密度分别为3.57%和3.26%。

表5 典型样品测定结果（n=3）

典型样品	平行	人参皂苷含量（g/100g）	平均值（g/100g）	精密度（%）
DY1	1	58.53	56.34	3.57
	2	55.99		
	3	54.49		
DY2	1	0.0938	0.09	3.26
	2	0.0952		
	3	0.0894		

5 方法验证及实际样品测试

5.1 方法验证单位

本标准编制小组成员共有19家单位，其中7家参编单位进行了方法验证实验。

5.2 测试要求

项目主导单位广州光亚新汉方化妆品科技有限公司给各编制单位寄送人参皂苷标准品人参皂苷CK和供测试用样品。

验证实验：根据影响方法的精密度和准确度的主要因素和数理学统计的要求，编制测试报告，测试数据主要包括方法校准曲线、检出限及定量下限、精密度、准确度。

实际典型样品测试：每个样品平行测试三次，从称量开始平行，得到三次测试结果及平均结果。

5.2.1 标准曲线

由各参与验证实验的单位根据实际实验条件及器皿规格自行配置标准曲线,要求相关系数 r 大于 0.999,且所有样品浓度落在线性范围内。

5.2.2 检出限和测定下限

以仪器信噪比 $(S/N) \geq 3$ 时的浓度作为检出限,以 $(S/N) \geq 10$ 时的浓度作为定量下限。

5.2.3 方法精密度

各验证实验室对提供的样品进行精密度测试,按实验方法,进行 6-8 次平行测定,计算人参皂昔CK含量的平均值和相对标准偏差。

5.2.4 方法准确度

各验证单位对提供的样品进行加标实验,根据方法处理样品,并经过必要稀释,往处理好的样品甲醇溶液加入近似等量的标准品,标准液浓度为1.0 mg/mL,计算加标回收率及相对标准偏差。

5.3 方法验证过程

按照方法验证方案准备实验用品,在方法验证前,确保参加验证的单位具备必要且达到测试要求仪器和器皿,且操作人员应熟悉和掌握方法原理、操作步骤及流程。方法验证过程中所用的试剂和材料、仪器和设备分析步骤应符合方法相关要求,7家单位的实验报告详见附件。

5.4 验证结果

5.4.1 标准曲线

将系列标准工作液分别注入高效液相色谱仪中,测得相应的峰面积,以标准工作液的质量浓度为横坐标,被测组分的峰面积纵坐标,绘制标准曲线。各方法确认单位测试人参皂昔CK的工作标准曲线和相关系数如表6所示,可见在0.05 mg/mL—1.0 mg/mL质量浓度范围内,人参皂昔CK的浓度与峰面积的线性相关性好,各单位测试得到的标准曲的相关系数均在0.999以上。

表 6 人参皂苷CK的工作标准曲线和相关系数结果汇总

实验室	标准曲线 (0.05mg/mL-1mg/mL)	
	回归方程	相关系数 (<i>r</i>)
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检测中心	$y = 8862.6062x - 48.3397$	0.99996
广州梵之容化妆品有限公司	$y = 9280.98582x + 70.50225$	0.99966
中科检测技术服务(广州)股份有限公司	$y = 4266.34x + 37247.4$	0.99984
暨南大学测试中心	$y = 8667.7074x + 7.9393$	0.99999
广东省科学院化工研究所	$y = 9610607x + 40197$	0.99959
仲恺农业工程学院	$y = 6183.9460x - 14.1818$	0.99995
广州恒滔贸易有限公司	$y = (5.58619e+006)x + 240930$	0.9994885

5.4.2 检出限及定量下限

以仪器信噪比 (S/N) ≥ 3 时人参皂苷CK的浓度作为检出限, 以 (S/N) ≥ 10 时的相应标准品浓度作为定量下限, 并根据方法计算检出限与定量限, 结果见表 7。总结 7家实验室的结果可知, 对于人参皂苷CK含量大于10%的样品, 称样量为0.2 g时, 人参皂苷CK检出限为和定量限人参皂苷CK的检出限为 1.2 mg/100g-12.5 mg/100g, 定量限为 4.1 mg/100g-50 mg/100g对于人参皂苷CK含量小于10%的样品, 称样量为2 g时, 人参皂苷CK检出限为和定量限人参皂苷CK的检出限为 0.1 mg/100g-1.25 mg/100g, 定量限为 0.4 mg/100g-5.0 mg/100g。

表 7 检出限和测定下限结果汇总

测定结果 实验室	人参皂苷CK/(mg/100g)			
	检出限		定量限	
	0.2 g称样量	2 g称样量	0.2 g称样量	2 g称样量
广州光亚新汉方化妆品科技有限公司、广东轻工职业技术学院检测中心	1.2	0.1	4.1	0.4
广州梵之容化妆品有限公司	4.1	0.4	12.5	1.2
中科检测技术服务（广州）股份有限公司	12.5	1.2	37.5	3.8
暨南大学测试中心	3.8	0.4	12.5	1.3
广东省科学院化工研究所	12.5	1.25	50	5.0
仲恺农业工程学院	1.4	0.14	4.2	0.4
广州恒滔贸易有限公司	1.9	0.2	6.2	0.6

5.4.3 精密度结果

7家单位对两个不同含量水平的样品进行精密度测试，按实验方法，从称量开始进行行 8 平行测定，计算人参皂苷CK的保留时间和含量的 RSD 值。总结7家单位人参皂苷CK含量的RSD测定结果见表8，可知对于人参皂苷含量精密度实验的RSD值分别在0.97%-4.68%和0.88%-7.63%之间。

表 8 精密度实验结果汇总

样品 实验室	实验室内平行6-8次测试RSD值（%）	
	样品1（含量>10%）	样品2（含量<10%）
广州光亚新汉方化妆品科技有限公司、广东轻工职业技术学院检测中心	4.25	2.01
广州梵之容化妆品有限公司	1.19	2.57

中科检测技术服务（广州）股份有限公司	2.9	1.1
暨南大学测试中心	0.97	0.86
广东省科学院化工研究所	3.61	0.88
仲恺农业工程学院	1.2	1.7
广州恒滔贸易有限公司	4.68	7.63

5.4.4 准确度结果

7家实验室对两个含量水平样品进行加标实验并计算回收率及精密度，每次加标准实验平行进行6-8次，结果见表10。人参皂苷CK回收率范围在96.3%-105.7%之间，平均回收率为100±1.2%。团标发起单位广州光亚新汉方化妆品科技有限公司、广东轻工职业技术学院检测中心室对低、中、高不同人参皂苷CK含量的5个样品进行5个不同浓度水平的加标实验，加标回收率范围为97.2%-102.5%，RSD均小于3%。结合另外6家实验室的加标加收率结果，可知人参皂苷CK含量的回收率范围为88.4%-112.99%。

表9 人参皂苷CK加标回收率测试结果汇总

试验 实验室	1		2		回收率范围
	平均回收率 (%)	精密度 (%)	平均回收率 (%)	精密度 (%)	
广州光亚新汉方化妆品科技有限公司、广东轻工职业技术学院检测中心	—	<3%	—	<3%	97.51%-105.97%
广州梵之容化妆品有限公司	97.85	4.71	102.12	4.88	90.10%-112.27%
中科检测技术服务（广州）股份有限公司	101.34	2.67	98.12	2.51	94.93%-104.59%
暨南大学测试中心	101.7	4.08	100.8	6.85	88.4%-108.2%

广东省科学院化工研究所	101.85	3.21	107.77	1.65	97.78%-110.0%
仲恺农业工程学院	102.24	2.6	101.08	3.2	96.3%-104.9%
广州恒滔贸易有限公司	98.34	7.80	100.17	7.00	91.85%-112.99%

5.4.5 实际典型样品测试结果

典型样品DY1为固体样品含量大于10%，称取约0.2 g（精确至0.0001 g），按方法进行样品处理，稀释10倍；典型样品DY2为液体样品含量小于10%，称取约2 g（精确至0.0001 g）。从称量开始平行实验测试三次，7家实验室测试结果和精密度见表11。可见实验室间典型样品DY1和DY2的相对标准偏差分别为6.89%和6.87%，其中典型样品DY2剔除可疑值0.077 g/100g，实验间测量结果的相对标准偏差为2.23%。典型样品DY1为粉末固体，且各参与验证的单位开展实验的时间主要在2024年4月到6月，该时间段当地天气潮湿多雨，湿度大且样品粉末的均一性会影响实验间测定量的一致性。

表 10 7 家实验室对实际典型样品测试结果汇总

实验室 \ 样品	DY1		DY2	
	人参皂苷CK含量/(g/100g)	精密度 (%)	参皂苷CK含量/(g/100g)	精密度 (%)
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检测中心	56.34	3.57	0.093	3.26
广州梵之容化妆品有限公司	59.08	0.21	0.077	1.96
中科检测技术服务（广州）股份有限公司	62.11	0.44	0.095	0.79
暨南大学测试中心	58.5	0.52	0.095	0.28
广东省科学院化工研究所	53.71	0.77	0.091	1.68
仲恺农业工程学院	51.20	1.47	0.090	1.11
广州恒滔贸易有限公司	61.26	0.99	0.092	7.37

6 与现行相关法律、法规和强制性标准的关系

本标准与现行相关法律、法规、规章及相关标准协调一致。符合现行相关法律、法规和强制性标准的规定。

7 重大分歧意见的处理经过和依据

本标准的编写过程中无重大分歧意见。

8 产业化情况、推广应用论证和预期达到的经济效果等情况

8.1 预期的社会效益

本标准实施后，可以建立一个公正、统一的产品质量评价平台，有利于保护消费者利益，促进市场良性竞争发展。

8.2 贯彻实施标准的要求和措施建议

本标准发布后，建议起草单位和广东省分析测试协会联合向相关检测机构开展标准的培训和宣贯。

9 附件材料（方法验证报告及实际样品测试报告）

附件1 方法验证报告及实际样品测试报告——广州光亚新汉方化妆品科技有限公司、广东轻工职业技术学院检测中心

附件2 方法验证报告及实际样品测试报告——广州梵之容化妆品有限公司

附件3 方法验证报告及实际样品测试报告——中科检测技术服务（广州）股份有限公司

附件4 方法验证报告及实际样品测试报告——暨南大学测试中心

附件5 方法验证报告及实际样品测试报告——广东省科学院化工研究所

附件6 方法验证报告及实际样品测试报告——仲恺农业工程学院

附件7 方法验证报告及实际样品测试报告——广州恒滔贸易有限公司

10 其他应予说明的事项

无。

人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法
方法确认报告

项目名称 人参皂苷CK的含量测定
高效液相色谱法
验证单位 广州光亚新汉方化妆品科技有限公司
验证单位 广东轻工职业技术学院检测中心
编 制 吴少微
批 准 张静茵、岑水斌

一、方法确认内容

对广州光亚新汉方化妆品科技有限公司提供的《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。该方法由广东省分析测试协会立项为团标标准，立项编号为 GAIA/JH20230203，项目名称“人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法”。方法确认的样品基质为固体样品和液体样品。

二、方法确认实验结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：高效液相色谱仪 Agilent 1260。

1.2 色谱柱：Agilent eclipse plus C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）

1.3 色谱条件：

a) 流动相：水-乙腈溶液；

b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	81	19
9.00	68	32
20.00	43	57
29.00	10	90
35.00	81	19

c) 流速：1.0 mL/min；

d) 柱温：30 °C；

e) 进样量：20 μL。

f) 紫外检测波长：203 nm

2. 方法学评价

2.1 方法线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

配制人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 mg/mL 的甲醇溶液，过膜后分别上机。实验结果由图 1 可知，在 0.05-0.10 mg/mL 范围内，人参皂苷 CK 的浓度与峰面积呈现较好的线性关系，回归方程为 $y = 8862.6062x - 48.3397$ ，相关系数 (r) 为 0.99996。当仪器信噪比 (S/N) 约为 3 和 10 时，人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.1 mg/L 和 0.33 mg/L，对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g

时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.2 mg/100g 和 4.1 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 0.1 mg/100g 和 0.4 mg/100g。

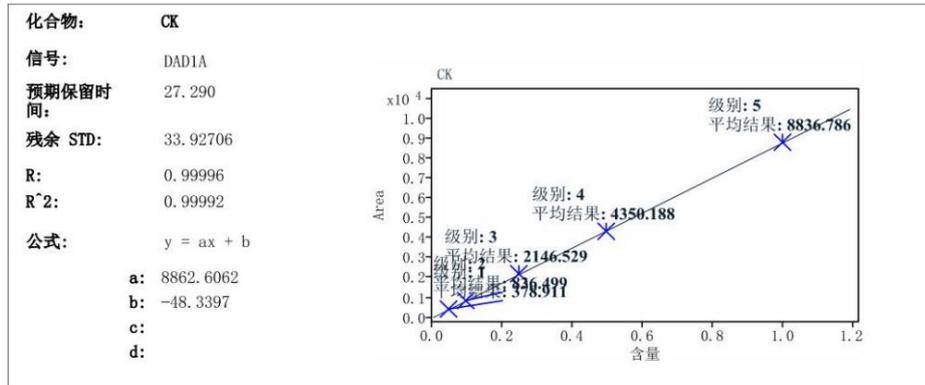


图 1 人参皂苷 CK 的校正曲线

2.2 方法精密度

本实验室采用低、中 1、中 2 和高四个浓度水平的样品进行精密度测试，按实验方法，进行 8 次平行测定，计算人参皂苷 CK 的保留时间和浓度含量的 RSD 值，得到保留时间的 RSD 在 0.01%-0.08% 之间，人参皂苷 CK 浓度的 RSD 在 0.47%-2.32% 之间，精密度均低于 0.4%，说明方法的精密度良好，满足含量测定要求，实验结果见表 2。

表 2 不同浓度水平精密度试验(n=8)

人参皂苷 CK	平行	保留时间 RT/min			含量/(mg/mL)		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
样品 1	1	27.173			0.0406		
	2	27.176			0.0407		
	3	27.179			0.0408		
	4	27.189	27.184	0.02	0.0412	0.0408	0.56
	5	27.191			0.0411		
	6	27.185			0.0406		
	7	27.188			0.0407		
	8	27.188			0.0407		
样品 2	1	27.222			0.252		
	2	27.230			0.255		
	3	27.228			0.252		
	4	27.230	27.228	0.01	0.252	0.253	0.47
	5	27.232			0.254		
	6	27.229			0.254		
	7	27.226			0.252		
	8	27.230			0.253		

样品 3	1	27.245			0.518		
	2	27.263			0.526		
	3	27.310			0.501		
	4	27.247			0.542		
	5	27.244	27.256	0.08	0.529	0.524	2.21
	6	27.250			0.529		
	7	27.247			0.524		
	8	27.244			0.524		
样品 4	1	27.302			1.041		
	2	27.301			1.052		
	3	27.363			1.068		
	4	27.318			1.098		
	5	27.309	27.315	0.08	1.029	1.060	2.32
	6	27.308			1.055		
	7	27.317			1.093		
	8	27.301			1.045		

选取两个样品从称量开始进行精密度测试，按实验方法，平行测定 8 次，计算人参皂苷 CK 的保留时间和含量的 RSD 值，得到保留时间的 RSD 值分别为 0.02% 和 0.06%，人参皂苷 CK 含量的 RSD 值分别为 2.01% 和 4.25%，精密度均低于 5%，说明方法的精密度良好，满足方法要求，实验结果见表 3。

表 3 不同含量样品精密度试验(n=8)

人参皂苷 CK	平行	保留时间 RT/min			含量/(g/100g)		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
样品 1	1	27.284			0.0947		
	2	27.286			0.0938		
	3	27.275			0.0947		
	4	27.275	27.276	0.02	0.0942	0.0939	2.01
	5	27.275			0.0894		
	6	27.275			0.0952		
	7	27.277			0.0947		
	8	27.274			0.0938		
样品 2	1	27.361			53.05		
	2	27.360			49.81		
	3	27.359			48.50		
	4	27.336	27.341	0.06	46.84	49.96	4.25
	5	27.333			50.29		
	6	27.329			50.89		
	7	27.325			48.01		
	8	27.326			52.27		

2.3 方法准确度

本实验室对低、中、高不同人参皂苷 CK 含量的 5 个样品进行 5 个不同浓度水平的加标实验。根据方法处理样品，并经过必要稀释，往处理好的样品甲醇溶液加入近似等量的标准品，标准液浓度为 1 mg/mL，计算加标回收率及相对标准偏差。结果如表 4 所示，可见五个六平行加标加回收率实验的平均回收率分别为 99.50%、101.15%、99.50%、100.53%和 104.72%，加标回收率范围为 97.51%-105.97%，RSD 均小于 3%，可见该方法回收率高，重复性好。

表 4 加标实验结果 (n=6)

人参皂苷 CK	样品测定 值 (mg/mL)	平行	加标量 (μ L)	加标测定 值 (mg/mL)	加标回收 率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
样品 1	0.065	1	100	0.127	99.50	99.50	1.33
		2		0.126	97.51		
		3		0.127	99.00		
		4		0.129	101.28		
		5		0.128	100.60		
		6		0.127	99.10		
样品 2	0.1014	1	100	0.1643	102.85	101.15	1.19
		2		0.1641	102.53		
		3		0.1643	100.54		
		4		0.1641	100.23		
		5		0.1643	100.54		
		6		0.1641	100.23		

			7		0.1643	102.85		
样品 3	0.260		1	300	0.407	99.40		
			2		0.411	101.39		
			3		0.407	98.71	99.50	1.16
			4		0.411	100.70		
			5		0.407	98.61		
			6		0.411	100.60		
样品 4	0.538		1	500	0.685	97.71		
			2		0.689	98.90		
			3		0.701	101.28	100.53	1.78
			4		0.701	101.28		
			5		0.701	101.99		
			6		0.701	101.99		
样品 5			1	800	0.954	104.48		
			2		0.959	105.97		
	0.906		3		0.955	104.78	104.72	0.69
			4		0.955	104.78		
			5		0.954	103.75		
			6		0.954	104.58		

2.4 典型样品检测结果及精密度

典型样品 DY1 为固体样品含量大于 10%，称取约 0.2 g（精确至 0.0001 g），按方法进行样品处理，稀释 10 倍；典型样品 DY2 为固体样品含量小于 10%，称取约 2 g（精确至 0.0001 g）。从称量开始平行实验测试三次，测试结果和精密度见表 5。可见典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 56.34 g/100g 和 0.093 g/100g，精密度分别为 3.57%和 3.26%。

表 5 典型样品测定结果 (n=3)

典型样品	平行	人参皂苷含量 (g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度 (%)
DY1	1	58.53	56.34	3.57
	2	55.99		
	3	54.49		
DY2	1	0.0938	0.093	3.26
	2	0.0952		
	3	0.0894		

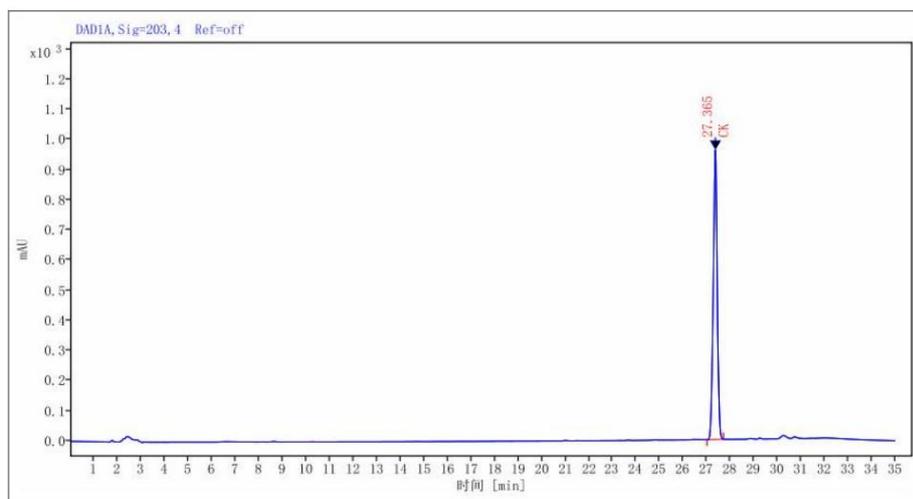
2.5 人参皂苷 CK 标准品和样品谱图

本方法确认实验中的人参皂苷 CK 标准品谱图，精密度实验和正确度实验部分样品谱图以及典型样品谱图附在最后。

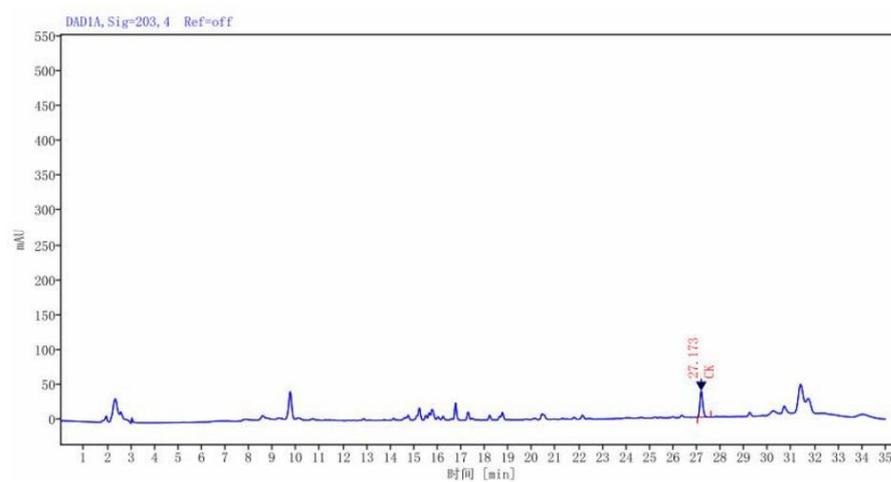
三、结论

经过对方法《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行验证实验，对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。验证实验结果表明，在 0.05-1.00 mg/L 浓度范围内，方法的线性回归方程为 $y=8862.6062x-48.3397$ ，相关系数 (r) 为 0.99996。对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 4.1 mg/100g 和 12.5 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 0.1 mg/100g 和 0.4 mg/100g。

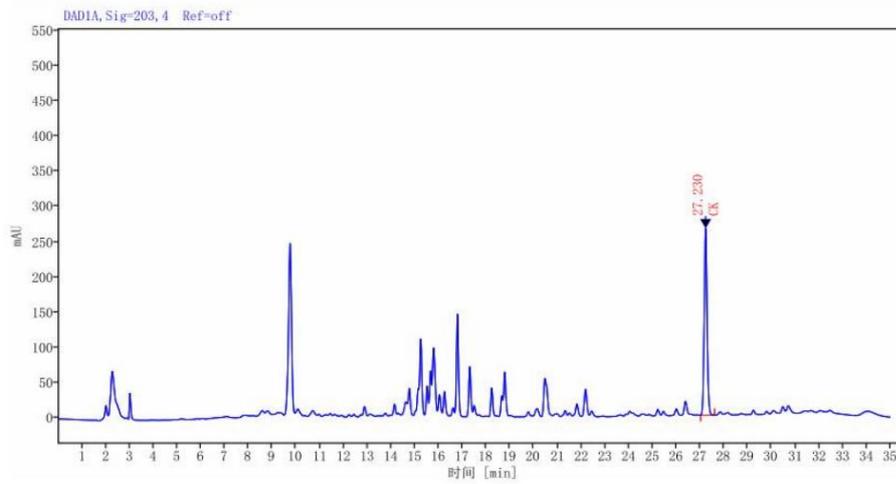
对低、中、高四个浓度水平的样品进行精密度实验结果显示保留时间的 RSD 在 0.02%-0.08% 之间，人参皂苷 CK 浓度的 RSD 在 0.00%-0.32% 之间，精密度均低于 0.4%，说明方法的精密度较好。对低、中、高不同人参皂苷 CK 含量的 5 个样品进行 5 个不同浓度水平的加标实验加标回收率范围为 97.2%-102.5%，RSD 均小于 3%，可见该方法回收率高，重复性好。典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 56.34 g/100g 和 0.093 g/100g，精密度分别为 3.57% 和 3.26%。综合上述方法确认实验可知，该方法能满足人参皂苷 CK 含量的测定要求。



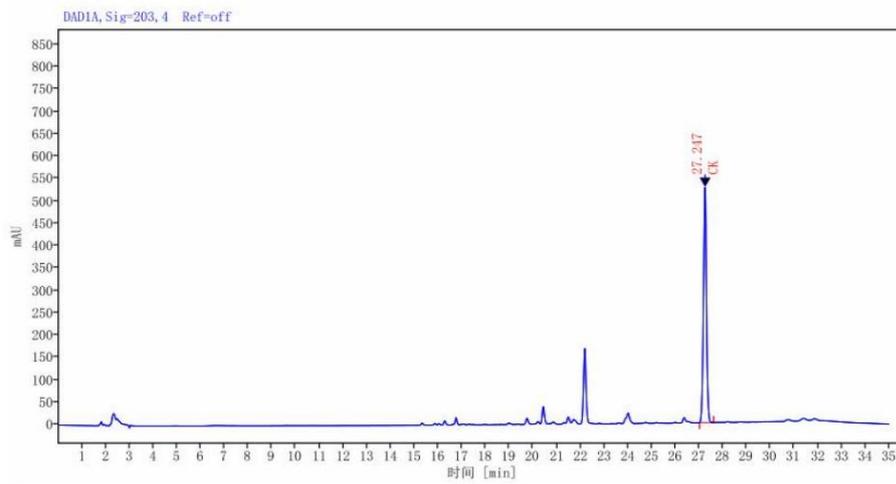
附图 1 人参皂苷 CK 标准溶液色谱图



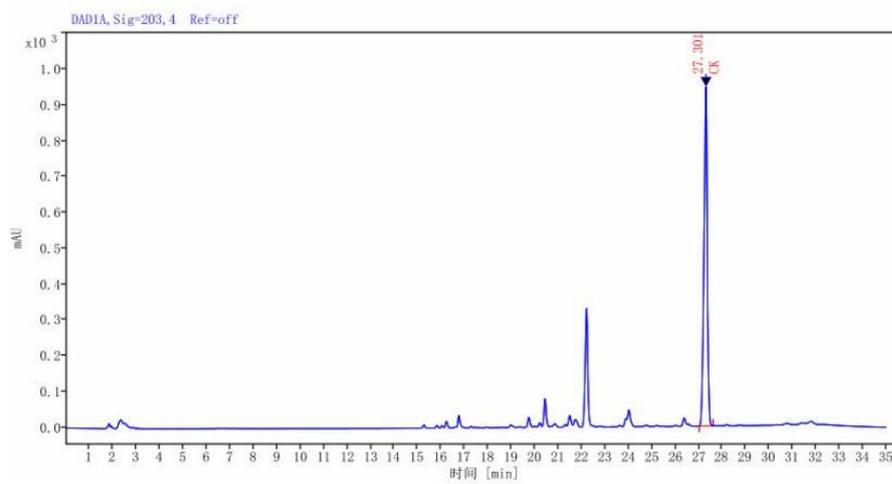
附图 2 精密度实验样品 1 色谱图



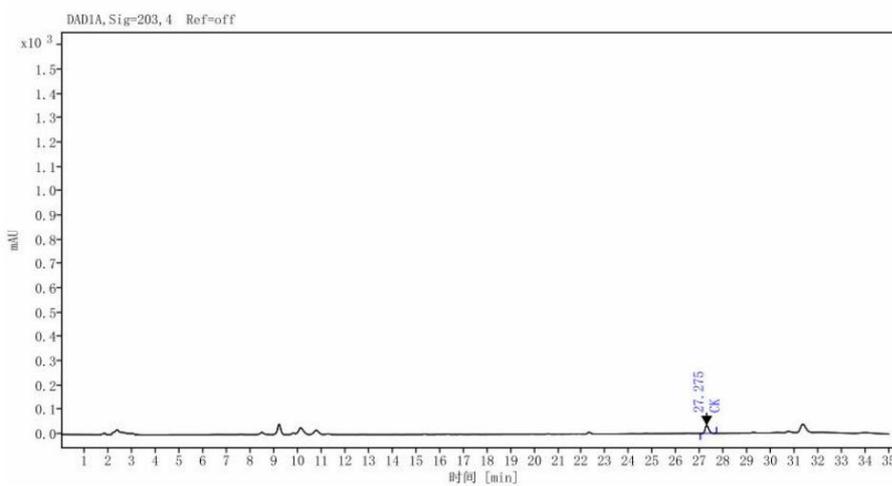
附图3 精密度实验样品2色谱图



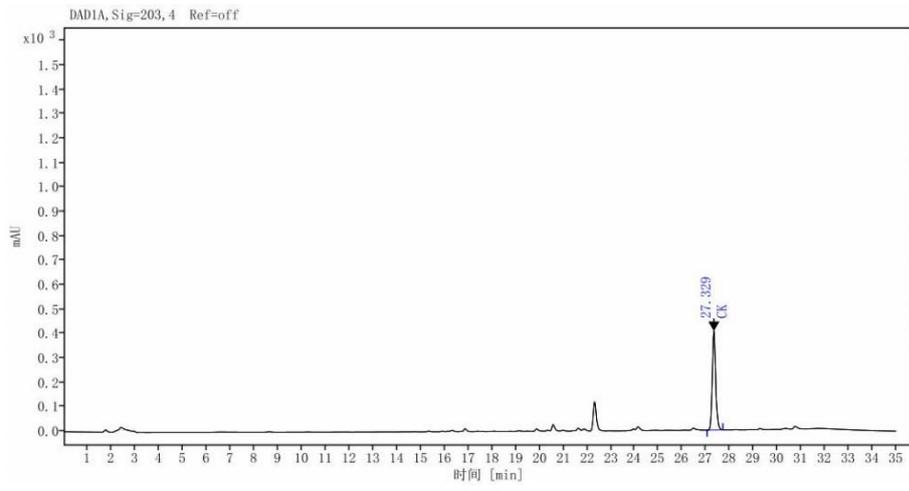
附图4 精密度实验样品3色谱图



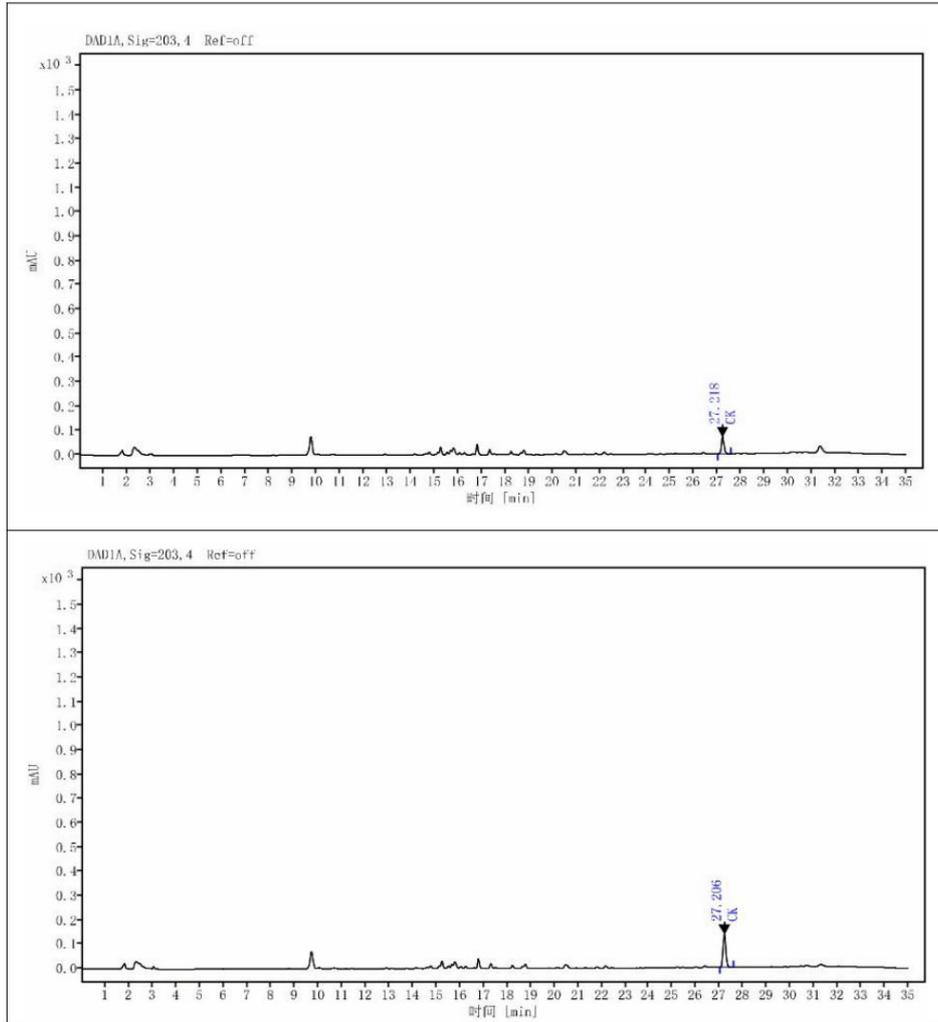
附图5 精密度实验样品4 色谱图



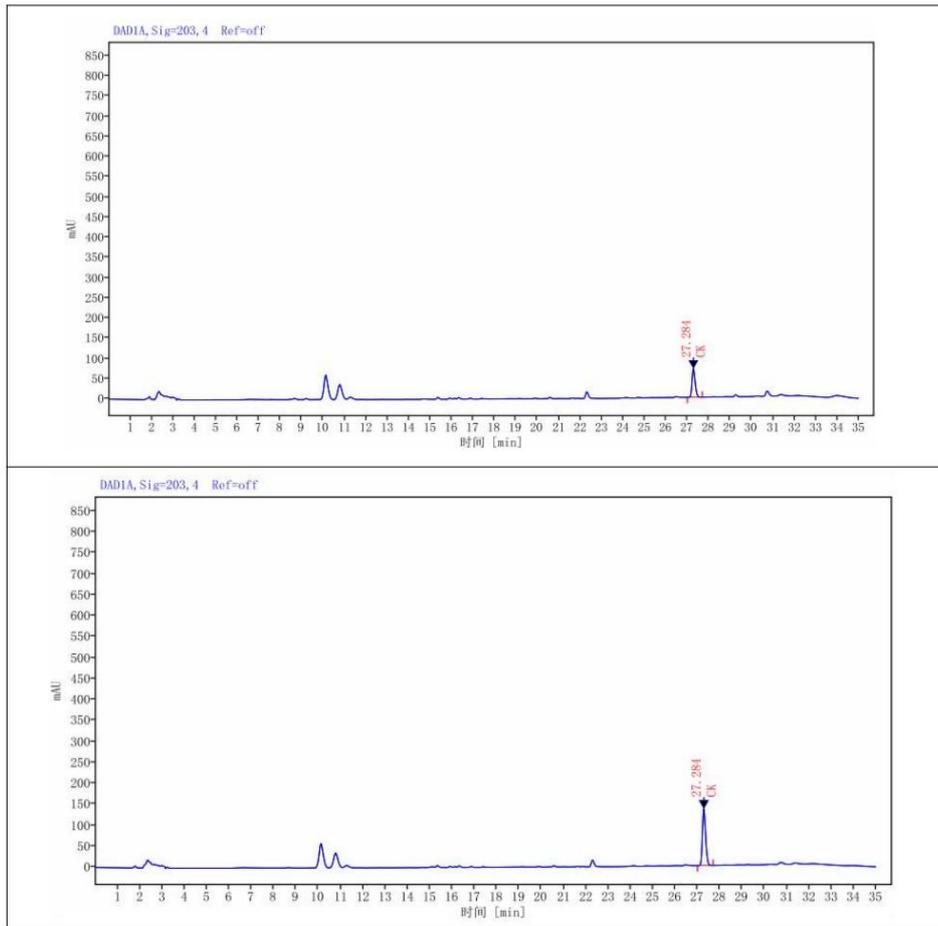
附图6 精密度实验样品5 色谱图



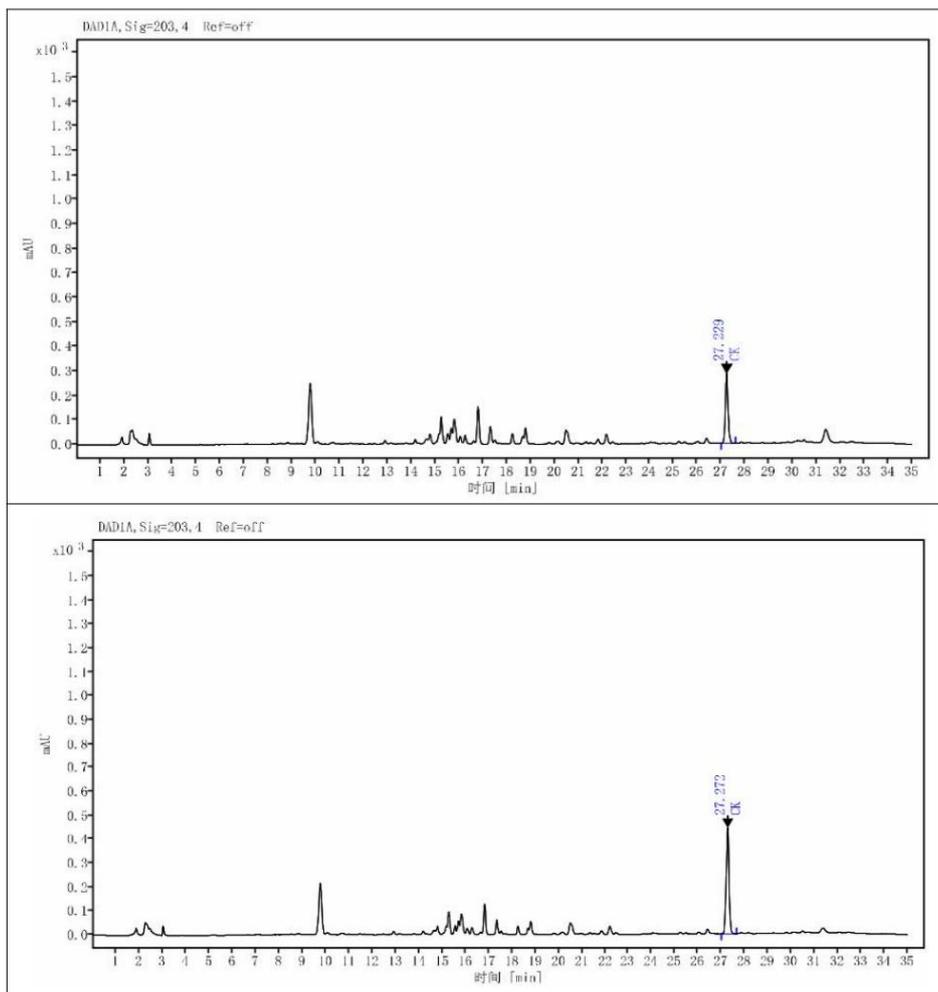
附图 7 精密度实验样品 6 色谱图



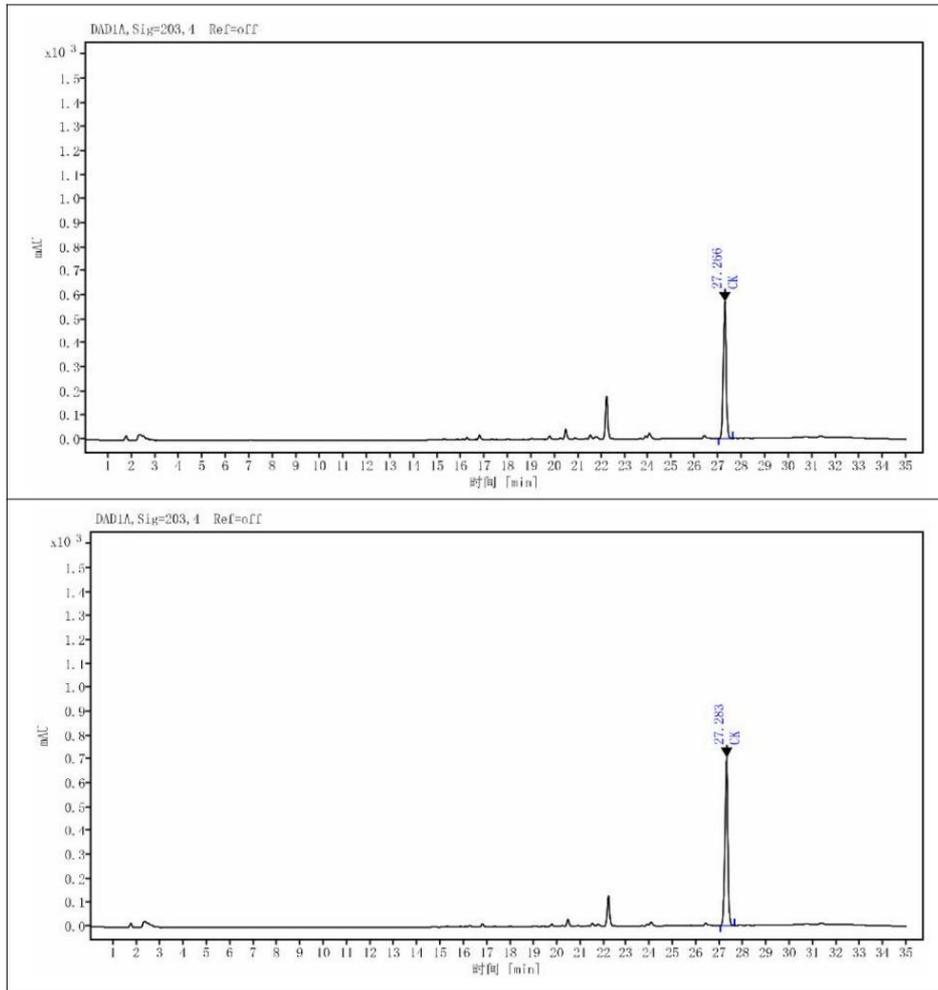
附图 8 准确度实验样品 1 加标前后色谱图



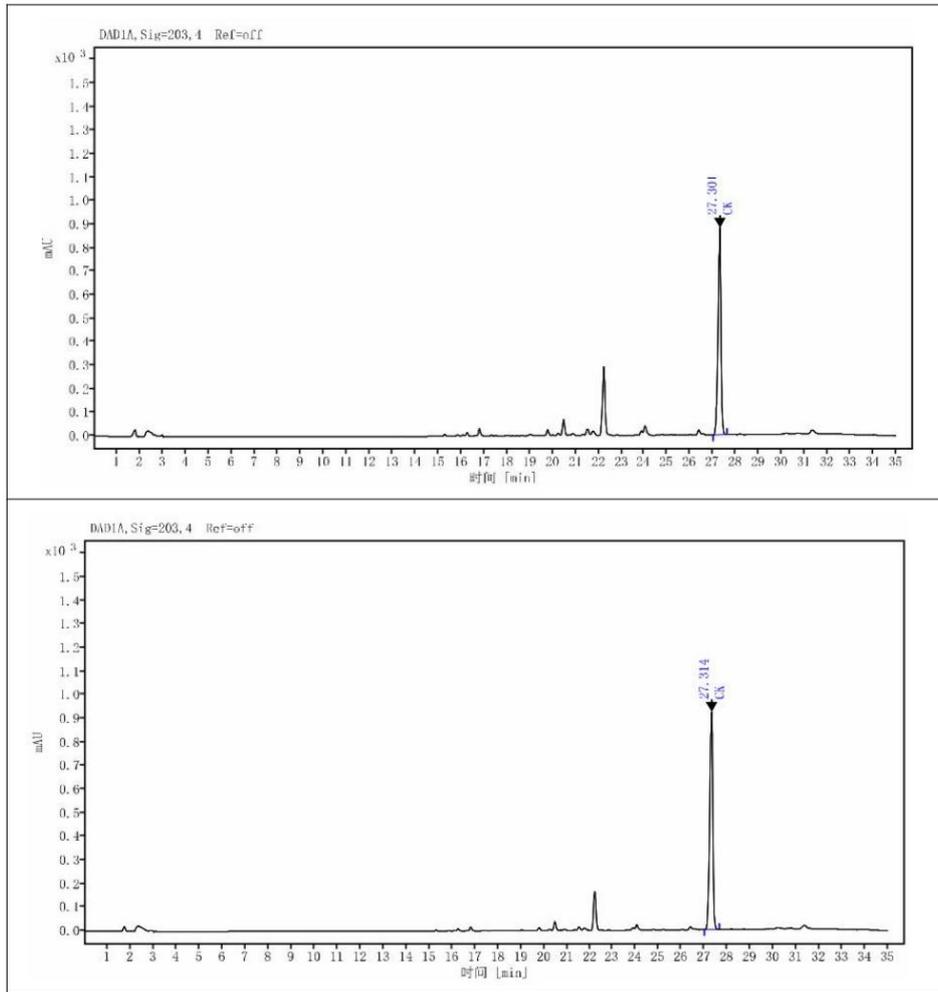
附图 9 准确度实验样品 2 加标前后色谱图



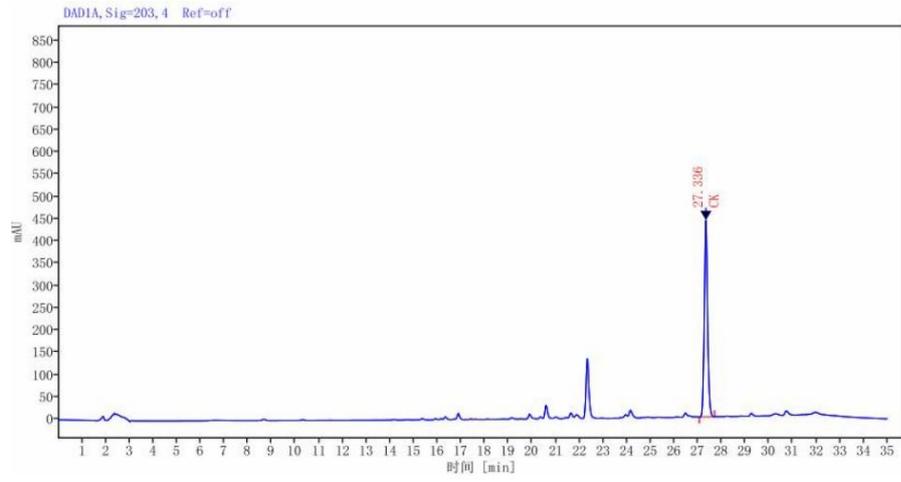
附图 10 准确度实验样品 3 加标前后色谱图



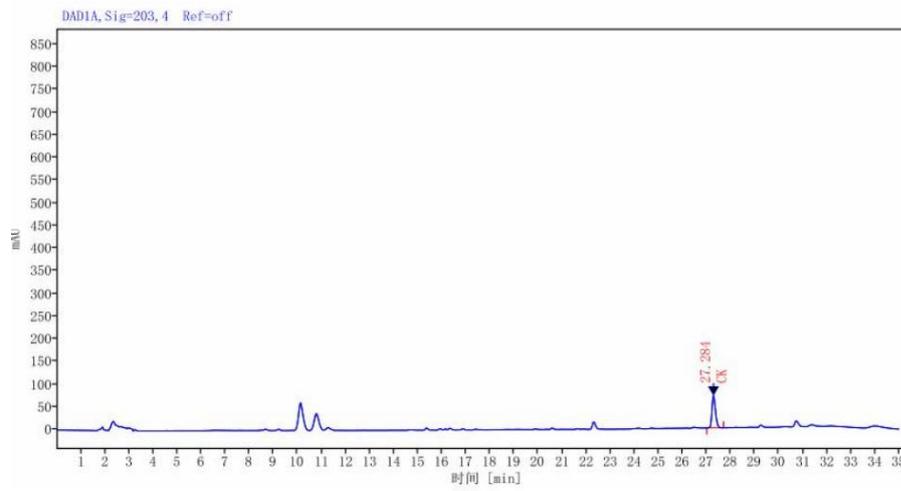
附图 11 准确度实验样品 4 加标前后色谱图



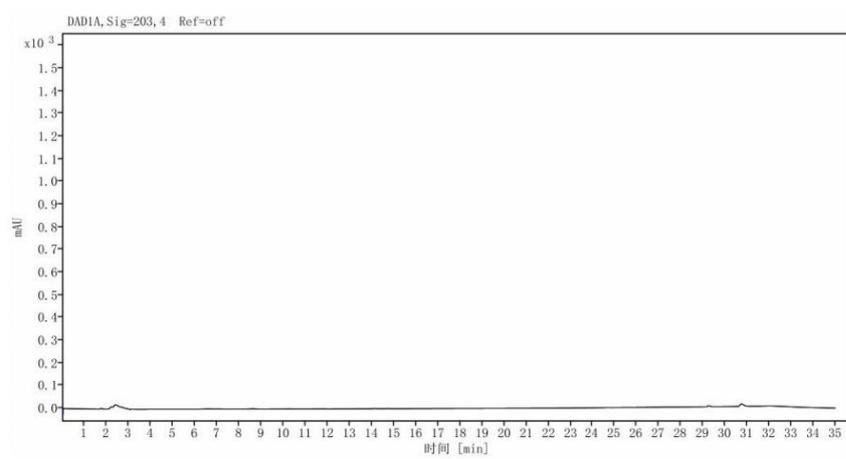
附图 12 准确度实验样品 5 加标前后色谱图



附图 13 典型样品 DY1 色谱图



附图 14 典型样品 DY2 色谱图



附图 15 空白样品色谱图

人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法
方法确认报告

项目名称 人参皂苷 CK 的含量测定
高效液相色谱法

委托单位 广州光亚新汉方化妆品科技有限公司

委托时间 2024年5月21日

验证单位 广州梵之容化妆品有限公司

编 制 李安章 侯森

验证时间 2024年6月25日 - 2024年7月25日



一、方法确认内容

对广州光亚新汉方化妆品科技有限公司提供的《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。该方法由广东省分析测试协会立项为团标标准，立项编号为 GAIA/JH20230203，项目名称“人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法”。方法确认的样品基质为固体样品和液体样品。

二、方法确认实验结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：高效液相色谱仪 Agilent 1260。

1.2 色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）

1.3 色谱条件：

- a) 流动相：水-乙腈溶液；
- b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	81	19
9.00	68	32
20.00	43	57
29.00	10	90
35.00	81	19

- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 柱温：30 °C；
- e) 进样量：20 μL。
- f) 紫外检测波长：203 nm

2. 方法学评价

2.1 方法线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

配制人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 mg/mL 的甲醇溶液，过膜后分别上机。实验结果由图 1 可知，在 0.05-0.10 mg/mL 范围内，人参皂苷 CK 的浓度与峰面积呈现较好的线性关系，回归方程为 $y=9280.98582x+70.50225$ ，相关系数 (r) 为 0.99966。当仪器信噪比 (S/N) 约为 3 和 10 时，人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.33 mg/L 和 1.0 mg/L，对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 4.1 mg/100g 和 12.5 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含

量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 0.4 mg/100g 和 1.2 mg/100g。

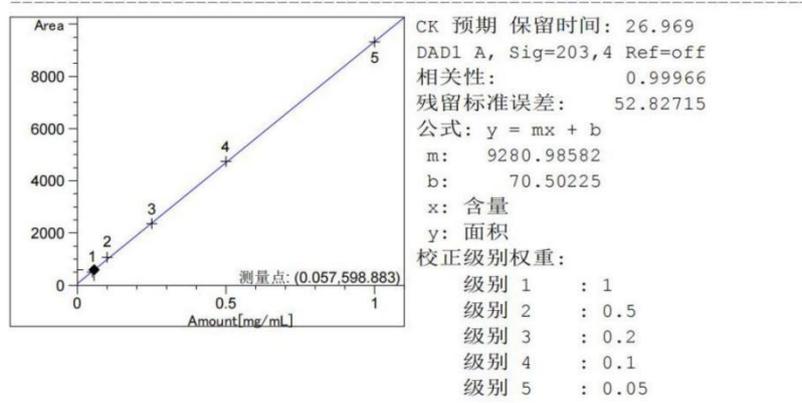


图 1 人参皂苷 CK 的校正曲线

2.2 方法精密度

本实验室采用两个浓度水平的样品进行精密度测试，按实验方法，从称量开始进行 8 次平行测定，计算人参皂苷 CK 含量的 RSD 值，得到人参皂苷 CK 含量的 RSD 在 85%-115% 之间，说明方法的精密度良好，满足质控要求，实验结果见表 2。



表2 精密度试验(n=8)

人参皂苷 CK	平行	含量/(g/100g)		
		检测值	均值	RSD/%
样品 1	1	0.076	0.078	2.57
	2	0.078		
	3	0.080		
	4	0.081		
	5	0.077		
	6	0.077		
	7	0.077		
	8	0.075		
样品 2	1	47.13	47.15	1.19
	2	47.61		
	3	47.54		
	4	45.83		
	5	47.37		
	6	47.28		
	7	47.15		
	8	47.32		

2.3 方法准确度

本实验室对不同人参皂苷 CK 含量的两个样品进行 2 个不同浓度水平的加标实验。根据方法处理样品, 并经过必要稀释, 往处理好的样品甲醇溶液加入近似等量的标准品, 加标量见表 3, 计算加标回收率及相对标准偏差。结果如表 3 所示, 可见加标回收率范围为 90.1%~112.3%, 可见该方法回收率高, 重复性好。

表3 加标实验结果

人参皂苷 CK	样品测定值/(mg/mL)	平行	加标量 (mg)	加标测定值/(mg/mL)	加标回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
样品 1	0.078	1	0.1	0.155	112.27	102.12	4.88
		2		0.153	108.94		
		3		0.146	99.49		
		4		0.147	100.20		
		5		0.146	99.46		
		6		0.143	100.44		
		7		0.147	100.74		
		8		0.145	100.24		
		9		0.146	97.28		

				1	0.632	98.39		
				2	0.625	101.63		
				3	0.632	98.64		
样品 2	58.97			4	0.625	101.82		
		0.45		5	0.633	98.98	97.85	4.71
				6	0.625	101.76		
				7	0.610	91.44		
				8	0.589	90.10		

2.4 典型样品检测结果及精密度

典型样品 DY1 为固体样品含量大于 10%，称取约 0.2 g（精确至 0.0001 g），按方法进行样品处理，稀释 10 倍；典型样品 DY2 为固体样品含量大于 10%，称取约 2 g（精确至 0.0001 g）。从称量开始平行实验测试三次，测试结果和精密度见表 4。可见典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 59.08% 和 0.077%，精密度分别为 0.21% 和 1.96%。

表 4 典型样品测定结果 (n=3)

典型样品	平行	人参皂苷含量 (g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度 (%)
DY1	1	58.94	59.08	0.21
	2	59.15		
	3	59.15		
DY2	1	0.077	0.077	1.96
	2	0.075		
	3	0.078		

2.5 人参皂苷 CK 标准品和样品谱图

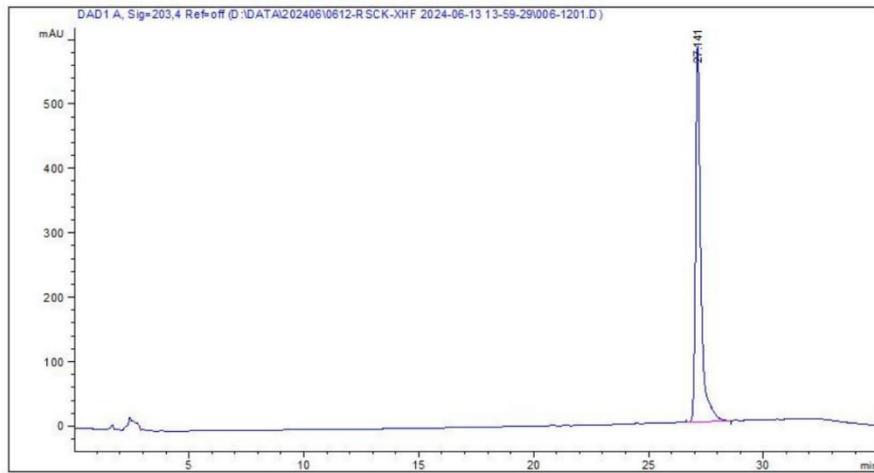
本方法确认实验中的人参皂苷 CK 标准品谱图，精密度实验和正确度实验部分样品谱图以及典型样品谱图附在最后。

三、结论

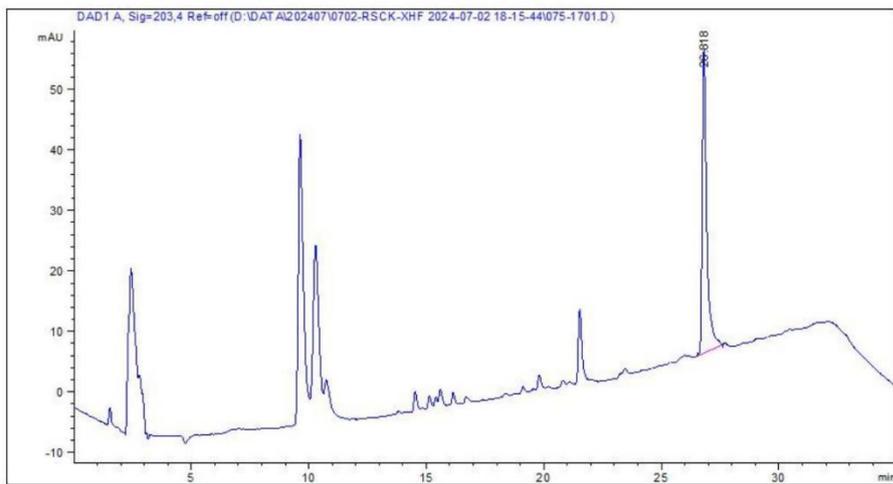
经过对方法《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行验证实验，对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。验证实验结果表明，在 0.05-1.00 mg/L 浓度范围内，方法的线性回归方程为 $y=9280.98582x+70.50225$ ，相关系数 (r) 为 0.99966。对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 4.1 mg/100g 和 12.5 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 0.4 mg/100g 和 1.2 mg/100g。

对低、高两个浓度水平的样品进行精密度实验结果显示人参皂苷 CK 浓度的 RSD 在 85%-115% 之间，精密度均低于 5%，说明方法的精密度较好。对低、高两个浓度不同的人参皂苷 CK 含量的 8 个样品进行加标实验加标回收率范围为 90.1%~112.3%，RSD 均小于 5%，可见该方法回收率高，重复性好。典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 59.08 g/100g 和 0.077 g/100g，精密度分别为 0.21% 和 1.96%。综合上述方法确认实验可知，该方法能满足人参皂苷 CK 含量的测定要求。



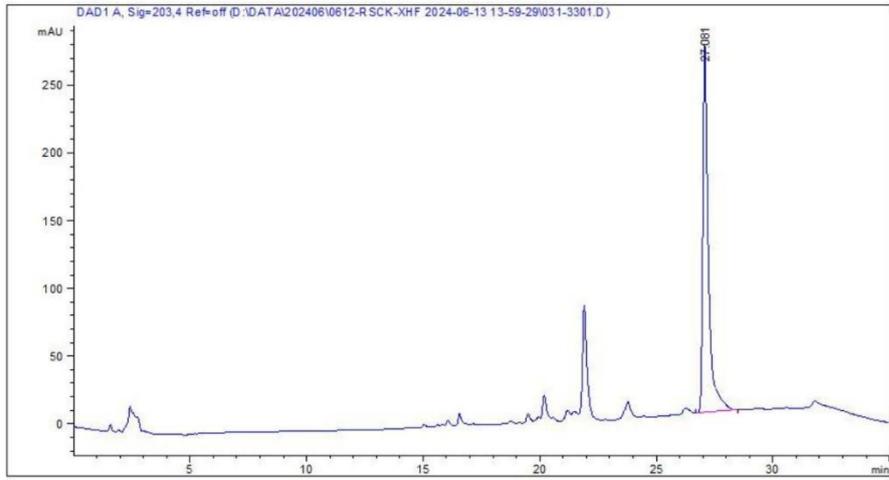


附图1 人参皂苷CK标准溶液色谱图



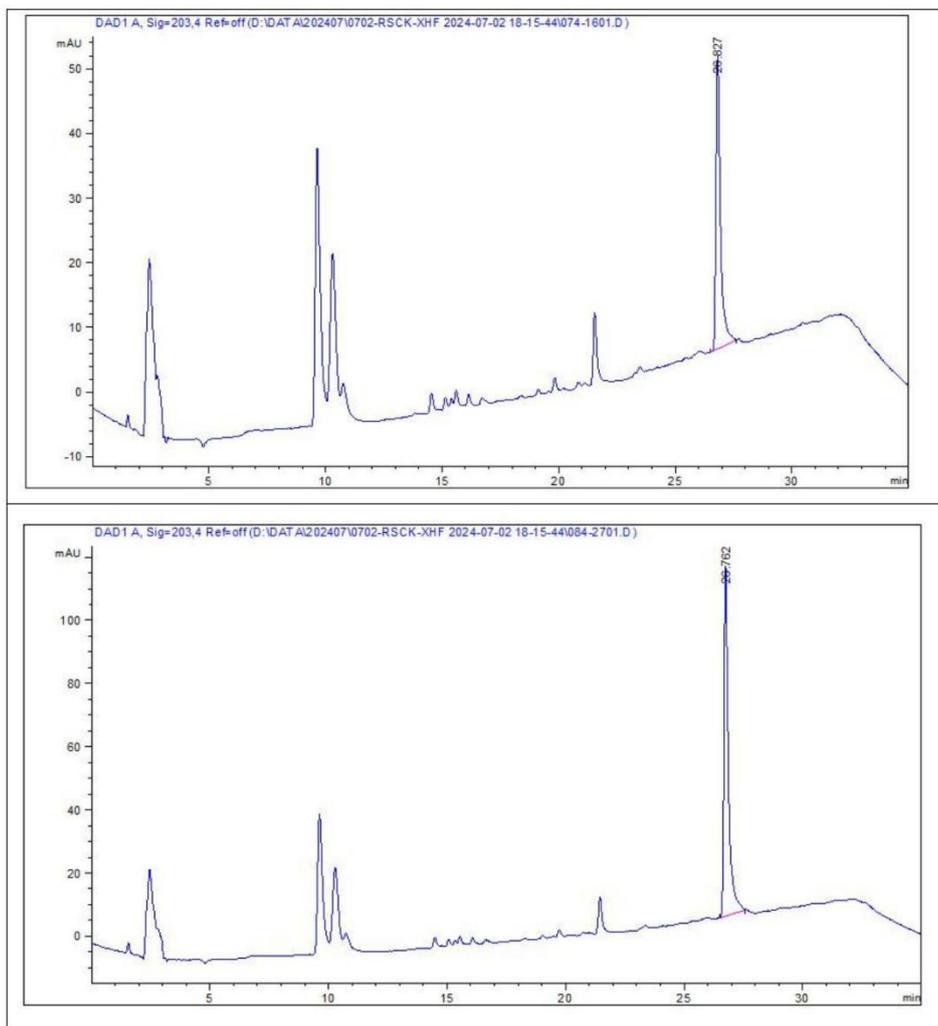
附图2 精密度实验样品1色谱图

—
—
—



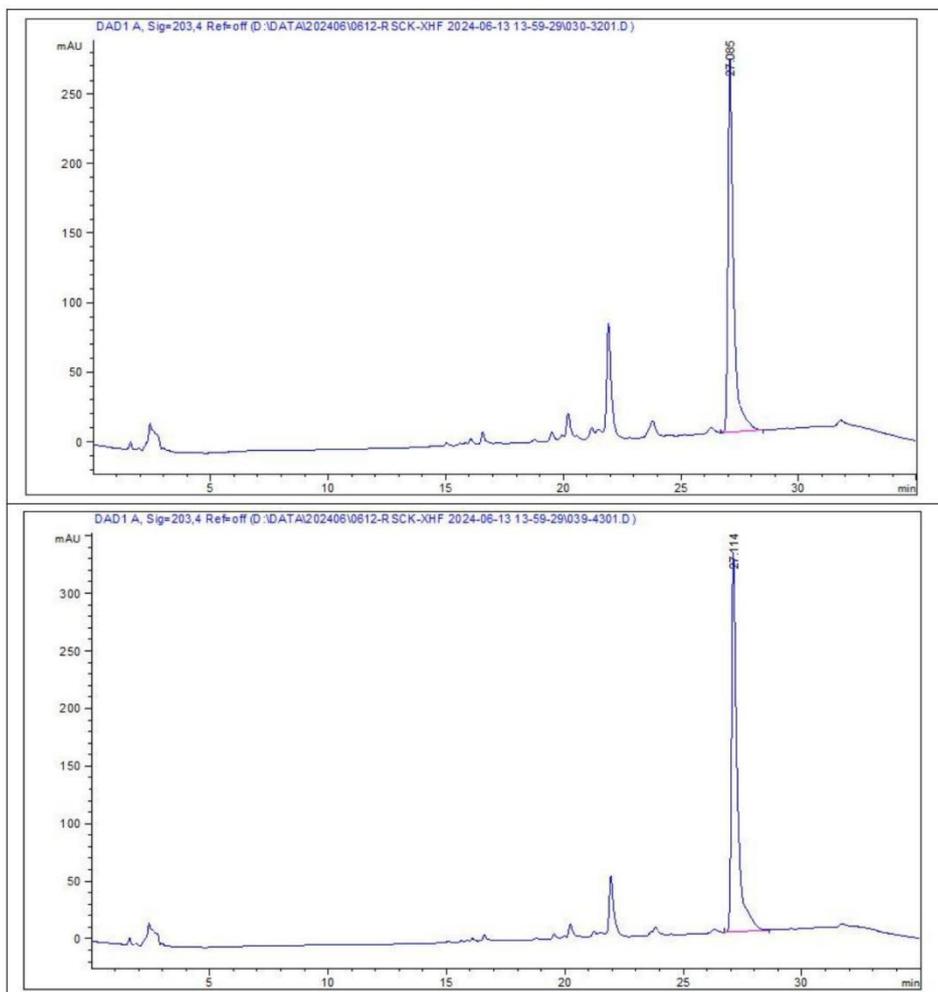
附图3 精密度实验样品2 色谱图

第 10 页



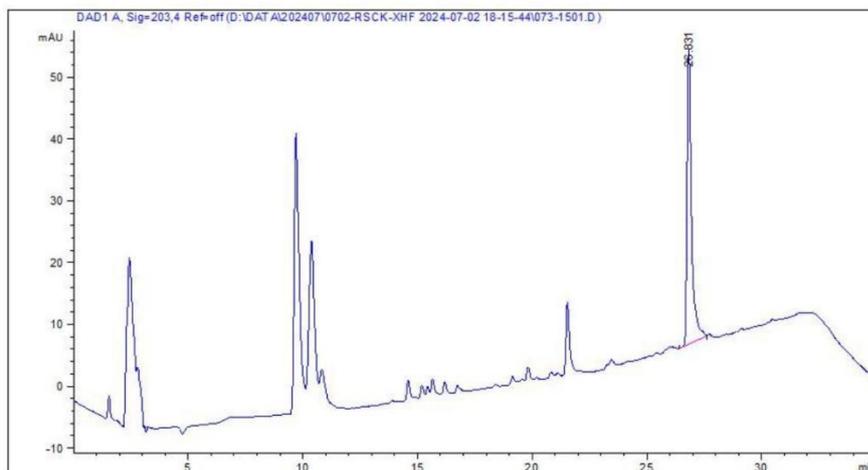
附图 4 样品 1 加标前后色谱图

天
元
大
藥
房

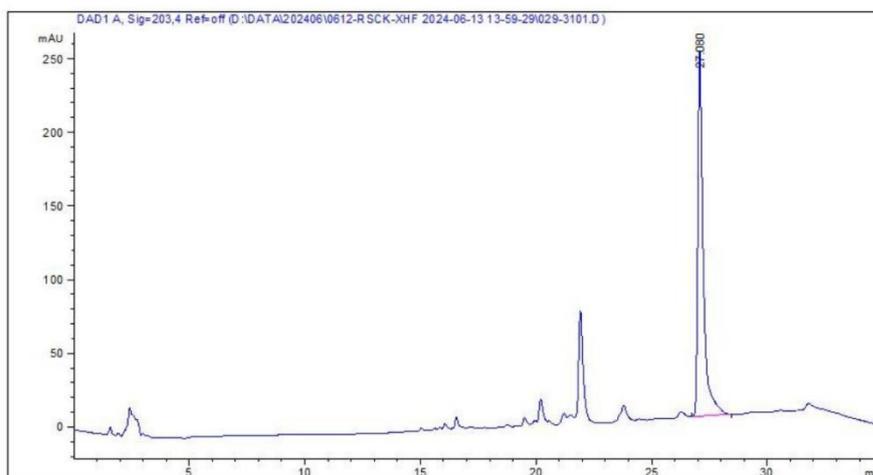


附图 5 样品 2 加标前后色谱图

天
阳
力



附图6 典型样品 DY1 色谱图



附图7 典型样品 DY2 色谱图

人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法
方法确认报告

项目名称 人参皂苷 CK 的含量测定
高效液相色谱法
委托单位 广州光亚新汉方化妆品科技有限公司
委托时间 2024年5月21日
验证单位 中科检测技术服务（广州）股份有限公司（盖章）
编 制 蔡斌 李华 (签名)
验证时间 2024年5月25日 - 2024年6月25日



一、方法确认内容

对广州光亚新汉方化妆品科技有限公司提供的《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。该方法由广东省分析测试协会立项为团标标准，立项编号为 GAIA/JH20230203，项目名称“人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法”。方法确认的样品基质为固体样品和液体样品。

二、方法确认实验结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：高效液相色谱仪岛津 LC-20AT。

1.2 色谱柱：Waters PAH C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）

1.3 色谱条件：

a) 流动相：水-乙腈溶液；

b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	81	19
9.00	68	32
20.00	43	57
29.00	10	90
35.00	81	19

c) 流速：1.0 mL/min；

d) 柱温：30 °C；

e) 进样量：20 μL。

f) 紫外检测波长：203 nm

2. 方法学评价

2.1 方法线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

配制人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 mg/mL 的甲醇溶液，过膜后分别上机。实验结果由图 1 可知，在 0.05-0.10 mg/mL 范围内，人参皂苷 CK 的浓度与峰面积呈现较好的线性关系，回归方程为 $y=4266.34x+37247.4$ ，相关系数 (r) 为 0.99984。当仪器信噪比 (S/N) 约为 3 和 10 时，人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 1.0 mg/L 和 3.0 mg/L，

对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 12.5 mg/100g 和 37.5 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.2 mg/100g 和 3.8 mg/100g。

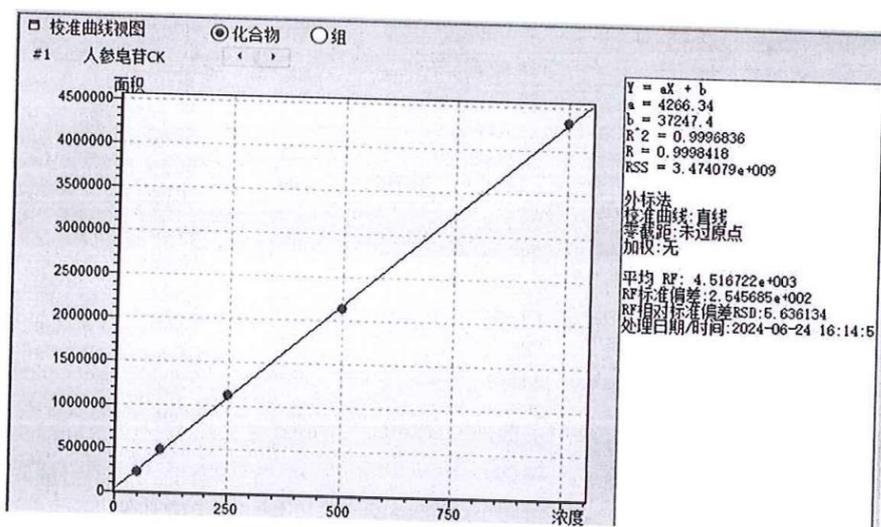


图 1 人参皂苷 CK 的校正曲线

2.2 方法精密度

本实验室采用两个浓度水平的样品进行精密度测试，按实验方法，从称量开始进行 8 次平行测定，计算人参皂苷 CK 的保留时间和含量的 RSD 值，得到保留时间的 RSD 在 0.03%~0.06% 之间，人参皂苷 CK 含量的 RSD 在 0.52%~1.13% 间，说明方法的精密度良好，满足质控要求，实验结果见表 2。

表 2 精密度试验(n=8)

人参皂苷 CK	平行	保留时间 RT/min			含量/(g/100g)		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
样品 1	1	28.698			55.72		
	2	28.705			56.19		
	3	28.706			55.80		
	4	28.698			56.18		
	5	28.719	28.716	0.06	55.98	55.96	0.52
	6	28.718			56.36		
	7	28.745			55.98		
	8	28.742			55.47		
样品 2	1	28.638			0.096		
	2	28.653			0.094		
	3	28.661			0.094		
	4	28.644			0.094		
	5	28.656	28.650	0.03	0.095	0.095	1.13
	6	28.656			0.095		
	7	28.640			0.093		
	8	28.655			0.097		

2.3 方法准确度

本实验室对不同的人参皂苷 CK 含量的两个样品进行 2 个不同浓度水平的加标实验。根据方法处理样品，并经过必要稀释，往处理好的样品甲醇溶液加入近似等量的标准品，标准液浓度为 1mg/mL，计算加标回收率及相对标准偏差。结果如表 3 所示，可见加标回收率范围为 94.9%~104.3%，可见该方法回收率高，重复性好。

表 3 加标实验结果 (n=8)

人参皂苷 CK	样品测定值 (mg/mL)	平行	加标量 (mg)	加标测定 值/(mg/mL)	加标回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
样品 1	0.50	1	0.5	0.656	96.39	101.34	2.67
		2		0.670	100.51		
		3		0.672	100.50		
		4		0.682	104.59		
		5		0.669	99.49		
		6		0.680	102.61		
		7		0.677	102.34		
		8		0.681	104.33		
样品 2	0.076	1	0.076	0.143	102.74	98.12	2.51
		2		0.141	98.93		
		3		0.140	98.34		
		4		0.140	97.52		
		5		0.141	100.07		
		6		0.138	95.70		
		7		0.139	96.72		
		8		0.138	94.93		

2.4 典型样品检测结果及精密度

典型样品 DY1 为固体样品含量大于 10%，称取约 0.2 g（精确至 0.0001 g），按方法进行样品处理，稀释 10 倍；典型样品 DY2 为液体样品含量小于 10%，称取约 2 g（精确至 0.0001 g）。从称量开始平行实验测试三次，测试结果和精密度见表 4。可见典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 62.11 和 0.095，精密度分别为 0.44 和 0.79。

表 4 典型样品测定结果 (n=3)

典型样品	平行	人参皂苷含量 (g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度 (%)
DY1	1	61.91	62.11	0.44
	2	62.43		
	3	62.00		
DY2	1	0.096	0.095	0.79
	2	0.094		
	3	0.094		

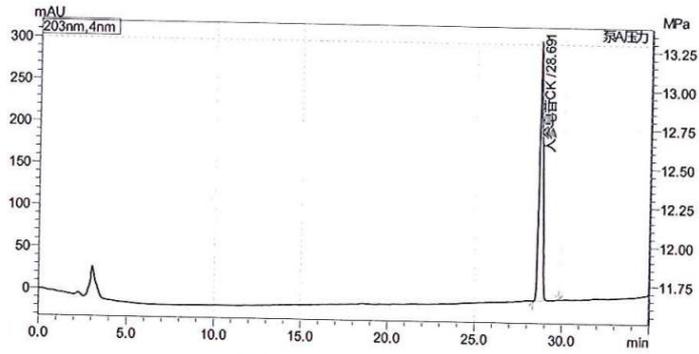
2.5 人参皂苷 CK 标准品和样品谱图

本方法确认实验中的人参皂苷 CK 标准品谱图，精密度实验和正确度实验部分样品谱图以及典型样品谱图附在最后。

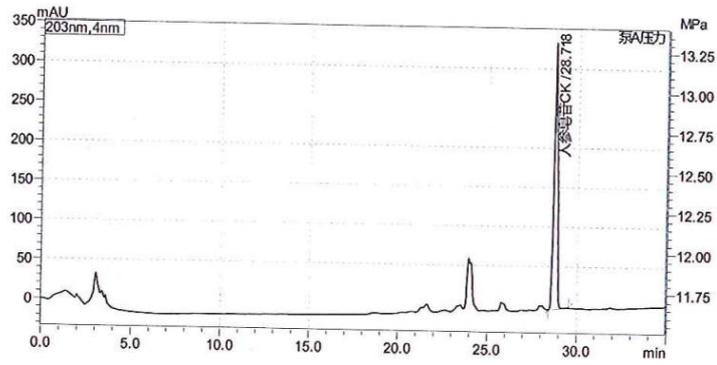
三、结论

经过对方法《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行验证实验，对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。验证实验结果表明，在 0.05-1.00 mg/mL 浓度范围内，方法的线性回归方程为 $y = 4266.34x + 37247.4$ ，相关系数 (r) 为 0.99984。对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 12.5 mg/100g 和 37.5 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.2 mg/100g 和 3.8 mg/100g。

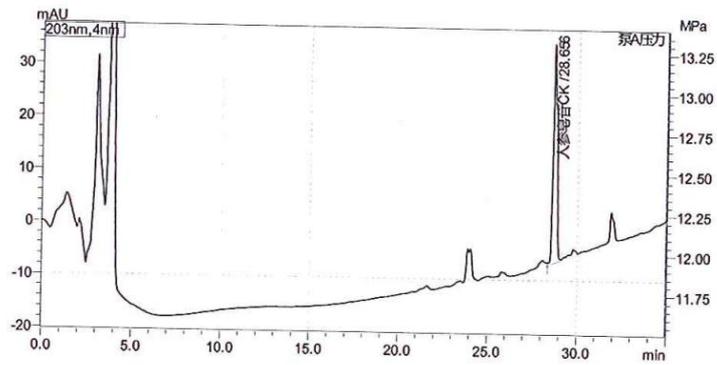
对两个浓度水平的样品进行精密度实验结果显示保留时间的 RSD 在 0.03%-0.06% 之间，人参皂苷 CK 浓度的 RSD 在 0.52%-1.13% 之间，精密度均低于 1.2%，说明方法的精密度较好。对不同的人参皂苷 CK 含量的 2 个样品进行 2 个不同浓度水平的加标实验加标回收率范围为 94.9%~104.3%，RSD 均小于 3%，可见该方法回收率高，重复性好。典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 62.11 g/100g 和 0.095 g/100g，精密度分别为 0.44% 和 0.79%。综合上述方法确认实验可知，该方法能满足人参皂苷 CK 含量的测定要求。



附图1 人参皂苷CK标准溶液色谱图

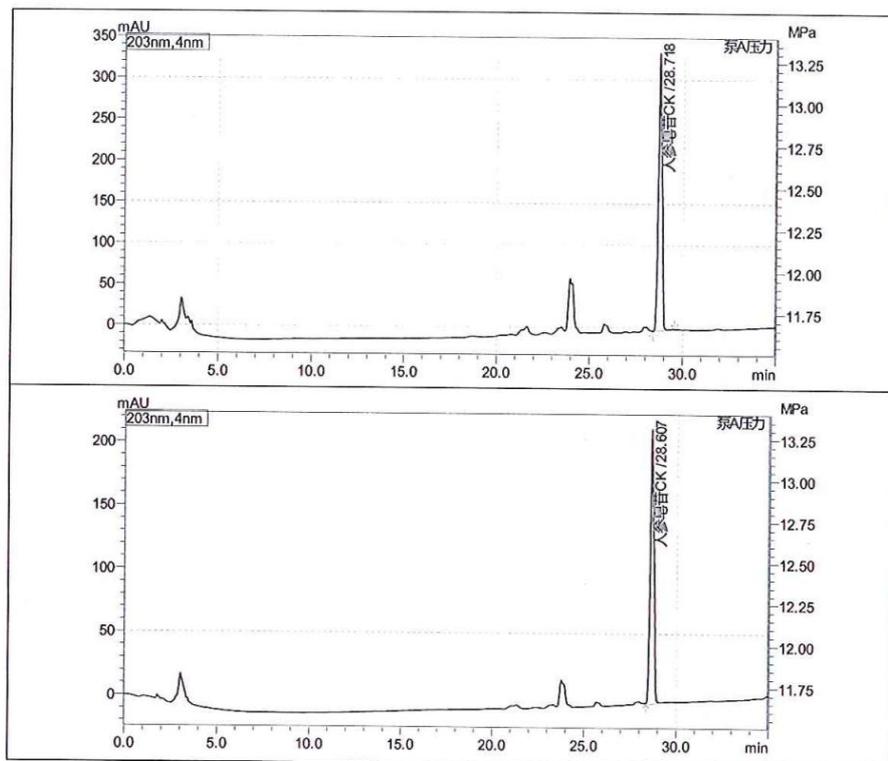


附图2 精密度实验样品1色谱图

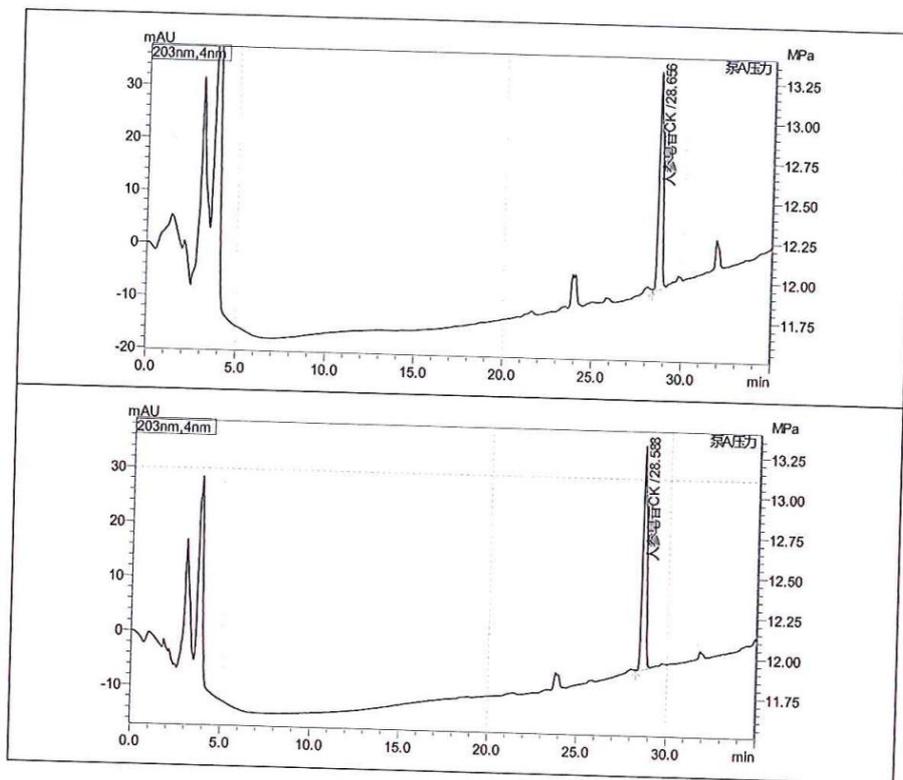


附图3 精密度实验样品2色谱图

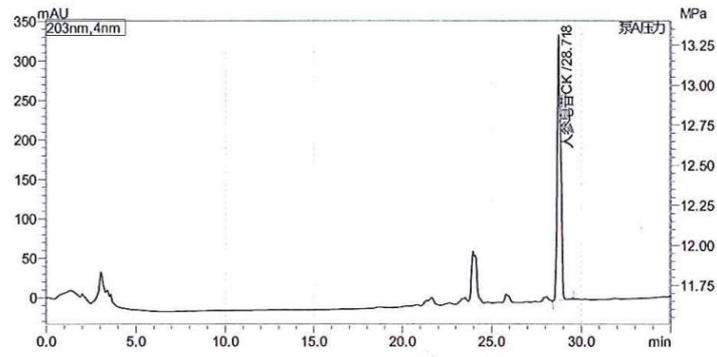




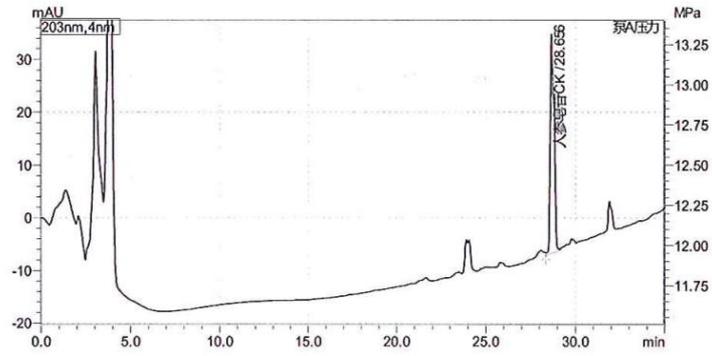
附图 4 样品 1 加标前后色谱图



附图 5 样品 2 加标前后色谱图



附图 6 典型样品 DY1 色谱图



附图 7 典型样品 DY2 色谱图

人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法
方法确认报告

项目名称 人参皂苷 CK 的含量测定
高效液相色谱法

委托单位 广州光亚新汉方化妆品科技有限公司

委托时间 2024年5月21日

验证单位 暨南大学分析测试中心 (盖章)

编 制 杨丽 (签名)

验证时间 2024年5月25日 - 2024年6月15日

一、方法确认内容

对广州光亚新汉化妆品科技有限公司提供的《人参皂苷CK的含量测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。该方法由广东省分析测试协会立项为团标标准，立项编号为GAIA/JH20230203，项目名称“人参皂苷CK的含量测定 高效液相色谱法”。方法确认的样品基质为固体样品和液体样品。

二、方法确认实验结果

1. 仪器条件

- 1.1 仪器及型号：高效液相色谱仪 Agilent 1260。
- 1.2 色谱柱：Agilent 5 TC-C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）
- 1.3 色谱条件：
 - a) 流动相：水-乙腈溶液；
 - b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	81	19
9.00	68	32
20.00	43	57
29.00	10	90
35.00	81	19

- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 柱温：30 °C；
- e) 进样量：20 μL。
- f) 紫外检测波长：203 nm

2. 方法学评价

2.1 方法线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

配制人参皂苷CK标准品浓度分别为0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 mg/mL的甲醇溶液，过膜后分别上机。实验结果由图1可知，在0.05-0.10 mg/mL范围内，人参皂苷CK的浓度与峰面积呈现较好的线性关系，回归方程为 $y = 8667.7074x + 7.9393$ ，相关系数(r)为0.999999。当仪器信噪比(S/N)约为3和10时，人参皂苷CK标准品浓度分别为0.3 mg/L和1.0 mg/L。

对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 3.8 mg/100g 和 12.5 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 0.4 mg/100g 和 1.3 mg/100g。

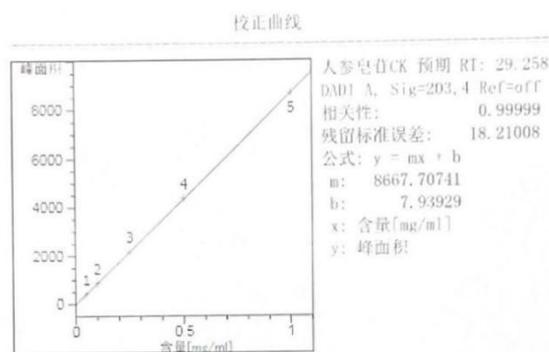


图 1 人参皂苷 CK 的校正曲线

2.2 方法精密度

本实验室采用两个浓度水平的样品进行精密度测试，按实验方法，从称量开始进行 8 次平行测定，计算人参皂苷 CK 的保留时间和含量的 RSD 值，得到样品 1 保留时间的 RSD 为 0.032%，样品 2 保留时间的 RSD 为 0.041%；样品 1 含量的 RSD 为 0.97%，样品 2 含量的 RSD 为 0.86%。说明方法的精密度良好，实验结果见表 2。

表 2 精密度试验(n=8)

人参皂苷 CK	平行	保留时间 RT/min			含量/(g/100g)						
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%				
样品 1	1	29.198			57.8						
	2	29.202			59.6						
	3	29.183			58.2						
	4	29.186	29.186	0.032	58.6	58.8	0.97				
	5	29.185			58.8						
	6	29.178			58.7						
	7	29.175			59.1						
	8	29.181			59.2						
样品 2	1	29.130							0.0937		
	2	29.123							0.0951		
	3	29.117							0.0952		
	4	29.091	29.119	0.041	0.0951	0.0943	0.86				
	5	29.126			0.0947						
	6	29.122			0.0930						
	7	29.122			0.0940						
	8	29.119			0.0938						

2.3 方法准确度

本实验室对不同的人参皂苷 CK 含量的两个样品进行 2 个不同浓度水平的加标实验。根据方法处理样品, 并经过必要稀释, 往处理好的样品甲醇溶液加入近似等量的标准品, 计算加标回收率及相对标准偏差。结果如表 3 所示, 可见加标回收率范围为 88.4%-108.2%, 可见该方法回收率较高, 重复性较好。

表3 加标实验结果 (n=8)

化合物	平行	加标前 (mg/mL)	加标量 (mg/mL)	加标后 (mg/mL)	回收率%	平均回收 率 (%)
样品 1	1	0.2386		0.4927	101.6	101.7
	2	0.2314		0.4965	106.0	
	3	0.2407		0.5021	104.6	
	4	0.2550	0.25	0.4942	95.7	
	5	0.2446		0.4882	97.4	
	6	0.2258		0.4936	107.1	
	7	0.2487		0.4954	98.7	
	8	0.2379		0.4949	102.8	
样品 2	1	0.03815		0.08237	88.4	100.8
	2	0.03585		0.08827	104.8	
	3	0.03525		0.08937	108.2	
	4	0.03567	0.05	0.08828	105.2	
	5	0.03874		0.09015	102.8	
	6	0.03566		0.08688	102.4	
	7	0.03596		0.08189	91.9	
	8	0.03595		0.08729	102.7	

2.4 典型样品检测结果及精密度

典型样品 DY1 为固体样品含量大于 10%，称取约 0.2 g (精确至 0.0001 g)，按方法进行样品处理，稀释 10 倍；典型样品 DY2 为液体样品含量低于 10%，称取约 2 g (精确至 0.0001 g)。从称量开始平行实验测试三次，测试结果和精密度见表 4。可见典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 58.5 g/100g、0.0950 g/100g，精密度分别为 0.52%、0.28%。

表 4 典型样品测定结果 (n=3)

典型样品	平行	人参皂苷含量 (g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度 (%)
样品 DY1	1	58.2	58.5	0.52
	2	58.6		
	3	58.8		
样品 DY2	1	0.0951	0.0950	0.28
	2	0.0952		
	3	0.0947		

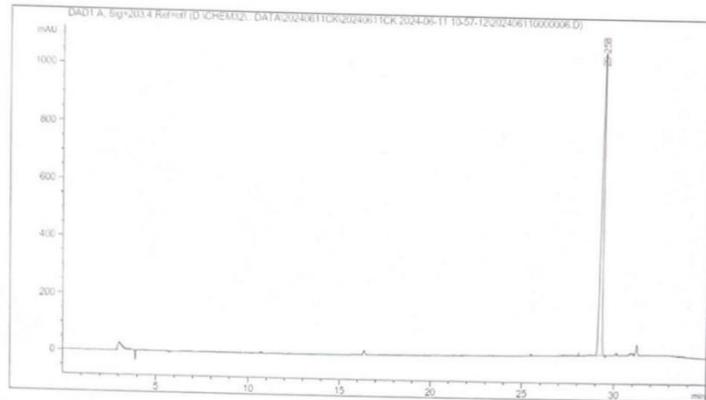
2.5 人参皂苷 CK 标准品和样品谱图

本方法确认实验中的人参皂苷 CK 标准品谱图, 精密度实验和正确度实验部分样品谱图以及典型样品谱图附在最后。

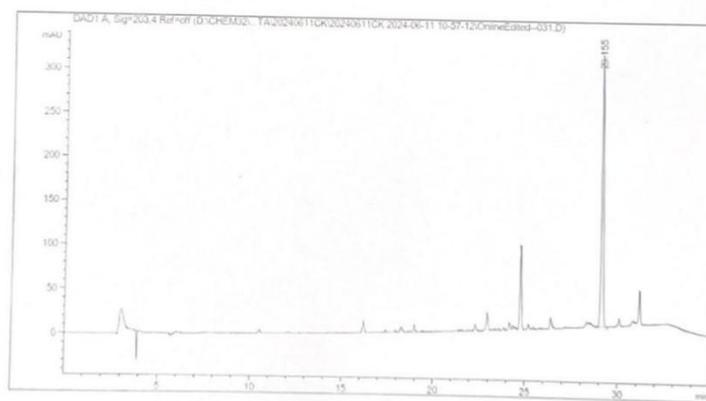
三、结论

经过对方法《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行验证实验, 对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。验证实验结果表明, 在 0.05-1.00 mg/L 浓度范围内, 回归方程为 $y=8667.7074x+7.9393$, 相关系数 (r) 为 0.99999。对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品, 称样量为 0.2 g 时, 人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 3.8 mg/100g 和 12.5 mg/100g; 对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品, 称样量为 2 g 时, 人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 0.4 mg/100g 和 1.3 mg/100g。

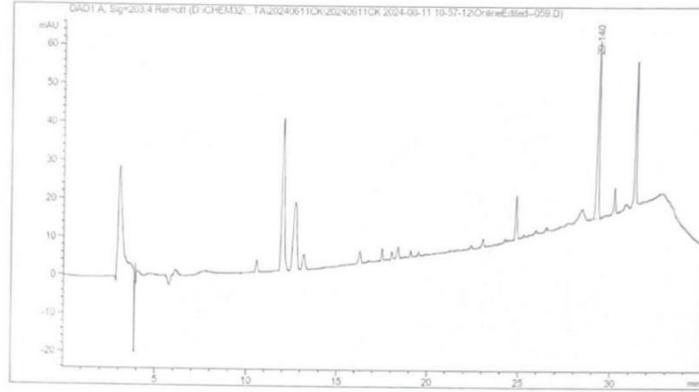
对样品 1 进行精密度实验结果显示保留时间的 RSD 为 0.032%, 样品 2 保留时间的 RSD 为 0.041%, 样品 1 含量的 RSD 为 0.97%, 样品 2 含量的 RSD 为 0.86%, 方法的精密度较好。对不同的人参皂苷 CK 含量的两个样品进行 2 个不同浓度水平的加标实验加标回收率范围为 88.4%-108.2%, 可见该方法回收率较高, 重复性较好。典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 58.5 g/100g、0.0950 g/100g, 精密度分别为 0.52%、0.28%。



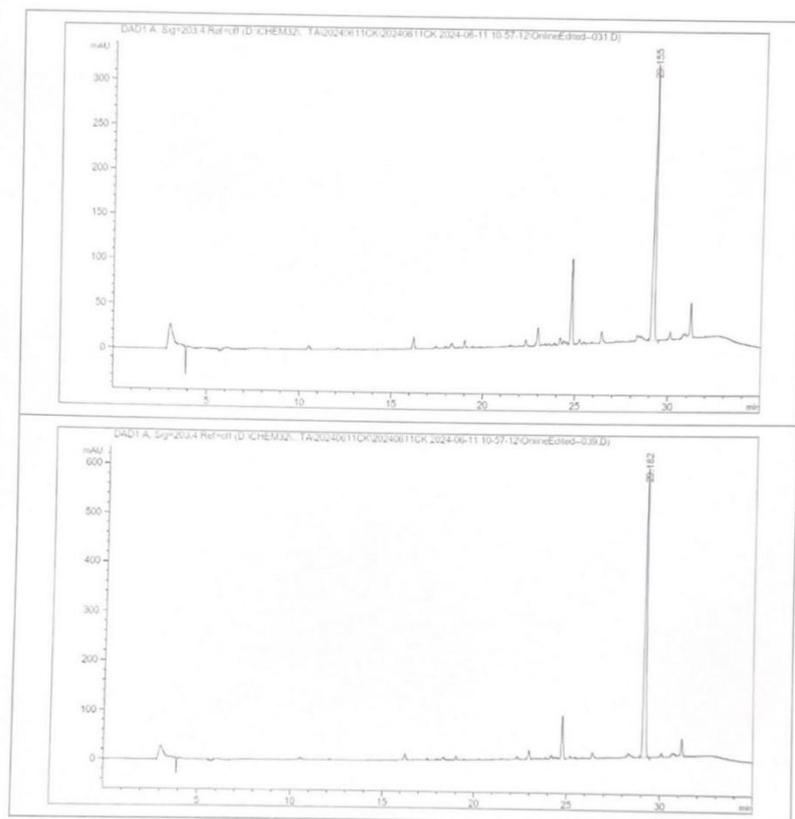
附图 1 人参皂苷 CK 标准溶液色谱图



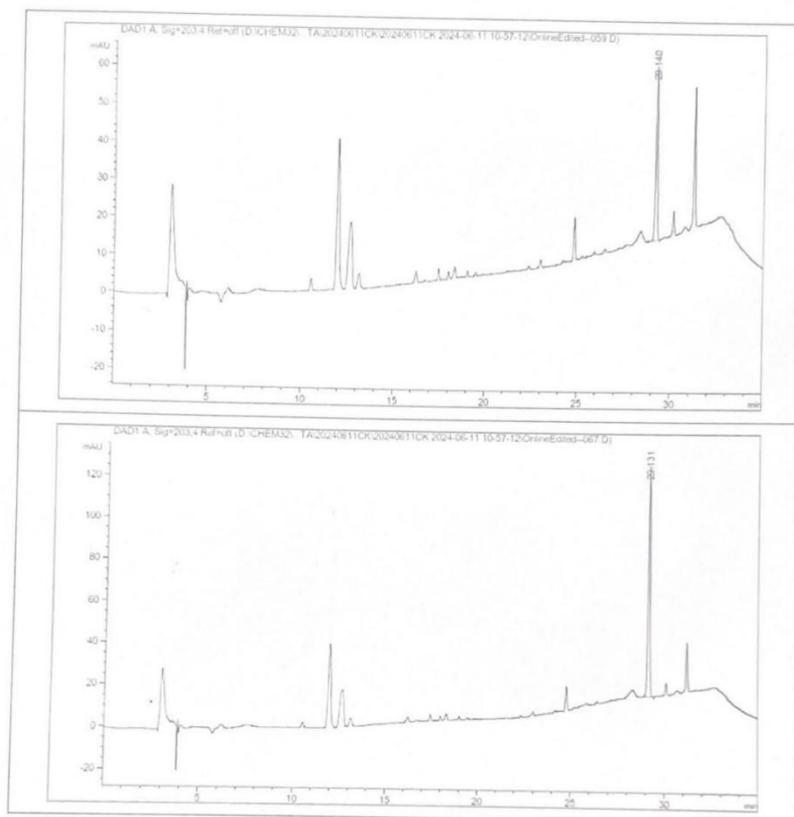
附图 2 精密度实验样品 1 色谱图



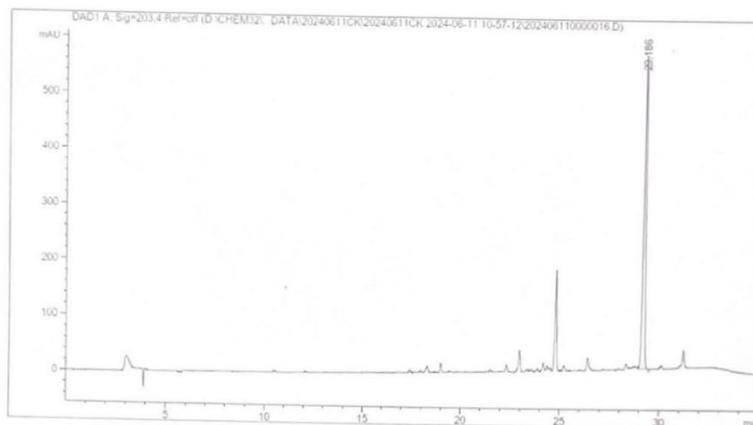
附图3 精密度实验样品2 色谱图



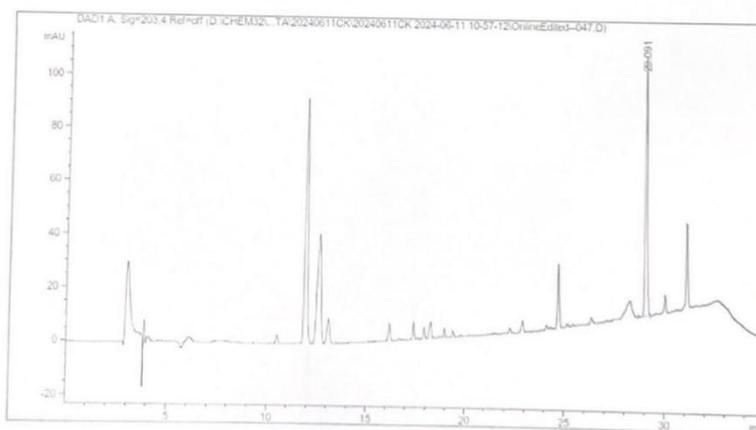
附图4 样品1加标前后色谱图



附图5 样品2加标前后色谱图



附图6 典型样品 DY1 色谱图



附图7 典型样品 DY2 色谱图

人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法
方法确认报告

项目名称 人参皂苷 CK 的含量测定
高效液相色谱法
委托单位 广州光亚新汉方化妆品科技有限公司
委托时间 2024 年 5 月 21 日
验证单位 广东省科学院化工研究所（盖章）
编 制 李欢玲（签名）
验证时间 2024 年 5 月 25 日 - 2024 年 6 月 25 日

一、方法确认内容

对广州光亚新汉方化妆品科技有限公司提供的《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。该方法由广东省分析测试协会立项为团标标准，立项编号为 GAIA/JH20230203，项目名称“人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法”。方法确认的样品基质为固体样品和液体样品。

二、方法确认实验结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：高效液相色谱仪 Waters ACQUITY Arc。

1.2 色谱柱：大连依利特 Supersil ODS2 C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）。

1.3 色谱条件：

a) 流动相：水-乙腈溶液；

b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	81	19
9.00	68	32
20.00	43	57
29.00	10	90
35.00	81	19

c) 流速：1.0 mL/min；

d) 柱温：30 °C；

e) 进样量：20 μL。

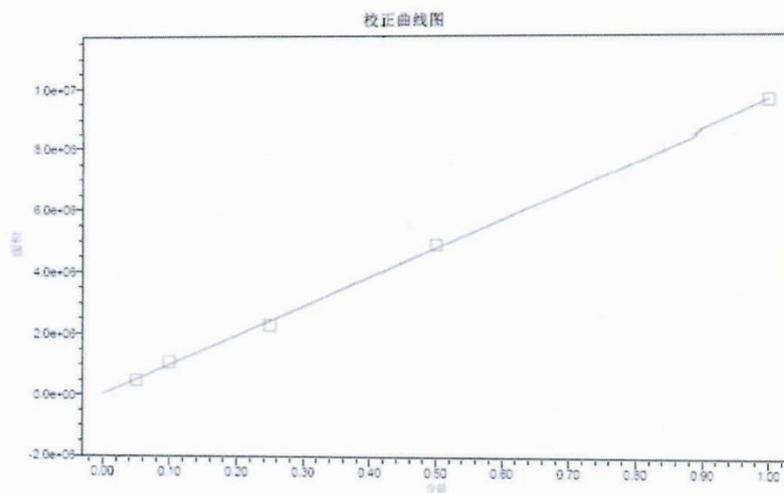
1.4 紫外检测波长：203 nm

2. 方法学评价

2.1 方法线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

配制人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 mg/mL 的甲醇溶液，过膜后分别上机。实验结果由图 1 可知，在 0.05-1.00 mg/mL 范围内，人参皂苷 CK 的浓度与峰面积呈现较好的线性关系，回归方程为 $y = 9610607x + 40197$ ，相关系数 (r) 为 0.99959。当仪器信噪比 (S/N) 约为 3 和 10 时，人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 1.0 mg/L 和 4.0 mg/L，

对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 12.5 mg/100g 和 50 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.25 mg/100g 和 5.0 mg/100g。



A: 4.019689e+04; B: 9.610607e+06; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.999170; 名称 CK; 处理方法 CK062802; 拟合类型 线性 (一阶); 校正曲线 ID 1849

图 1 人参皂苷 CK 的校准曲线

2.2 仪器重复性

本实验将 0.50 mg/mL 的 CK 标准品甲醇溶液，重复进样 6 次，计算人参皂苷 CK 的保留时间和峰面积的 RSD 值，得到保留时间的 RSD 为 1.04%，人参皂苷 CK 峰面积的 RSD 为 2.82% 间，说明仪器的重复性良好，满足质控要求，实验结果见表 2。

表 2 仪器重复性试验(n=6)

人参皂苷 CK	平行	保留时间 RT/min			峰面积		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
0.50 mg/mL	1	28.23			5358748		
	2	28.69			4958740		
	3	28.68	28.35	1.04	5239661	5241316	2.82
	4	27.92			5328835		
	5	28.24			5329392		
	6	28.35			5232521		

2.3 方法精密度

本实验室采用两个浓度水平的样品进行精密度测试,按实验方法,从称量开始进行 8 次平行测定,计算人参皂苷 CK 的保留时间和含量的 RSD 值,得到保留时间的 RSD 在 0.46~1.39%之间,人参皂苷 CK 含量的 RSD 在 0.88~3.61%间,说明方法的精密度良好,满足质控要求,实验结果见表 3。

表 3 精密度试验(n=8)

人参皂苷 CK	平行	保留时间 RT/min			含量/(g/100g)		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
样品 1	1	27.75			39.52		
	2	28.49			43.26		
	3	27.71			40.48		
	4	27.83	28.13	1.39	39.64	41.40	3.61
	5	27.91			40.79		
	6	28.61			43.03		
	7	28.63			42.60		
		8	28.13			41.90	
样品 2	1	26.67			0.084		
	2	26.72			0.085		
	3	26.61			0.084		
	4	26.72	26.75	0.46	0.085	0.085	0.88
	5	26.72			0.084		
	6	26.96			0.084		
	7	26.69			0.085		
		8	26.92			0.086	

2.4 方法准确度

本实验室对不同的人参皂苷 CK 含量的两个样品进行 2 个不同浓度水平的加标实验。根据方法处理样品, 并经过必要稀释, 往处理好的样品甲醇溶液加入近似等量的标准品, 标准液浓度为 1 mg/mL, 计算加标回收率及相对标准偏差。结果如表 4 所示, 可见两次 6 平行加标实际的平均加标回收率分别为 101.85% 和 107.77%, 加标回收率范围为 97.78%~110.0%, 可见该方法回收率高, 重复性好。

表 4 加标实验结果 (n=6)

人参皂苷 CK	样品测定值 (mg/mL)	平行	加标量 (mg)	加标测定 值/(mg/mL)	加标回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
样品 1	0.40	1	0.045	0.044	97.78	101.85	3.21
		2		0.044	97.78		
		3		0.046	102.22		
		4		0.047	104.44		
		5		0.047	104.44		
		6		0.047	104.44		
样品 2	0.06	1	0.10	0.1079	107.9	107.77	1.65
		2		0.1059	105.9		
		3		0.1055	105.5		
		4		0.1081	108.1		
		5		0.1100	110.0		
		6		0.1092	109.2		

2.5 典型样品检测结果及精密度

典型样品 DY1 为固体样品含量大于 10%, 称取约 0.2 g (精确至 0.0001 g), 按方法进行样品处理, 稀释 10 倍; 典型样品 DY2 为固体样品含量小于 10%, 称取约 2 g (精确至 0.0001 g)。从称量开始平行实验测试三次, 测试结果和精密度见表 4。可见典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 53.71 g/100g、0.091 g/100g, 精密度分别为 0.77%、1.68%。

表 5 典型样品测定结果 (n=3)

典型样品	平行	人参皂苷含量 (g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度 (%)
DY1	1	54.08	53.71	0.77
	2	53.78		
	3	53.26		
DY2	1	0.089	0.091	1.68
	2	0.091		
	3	0.092		

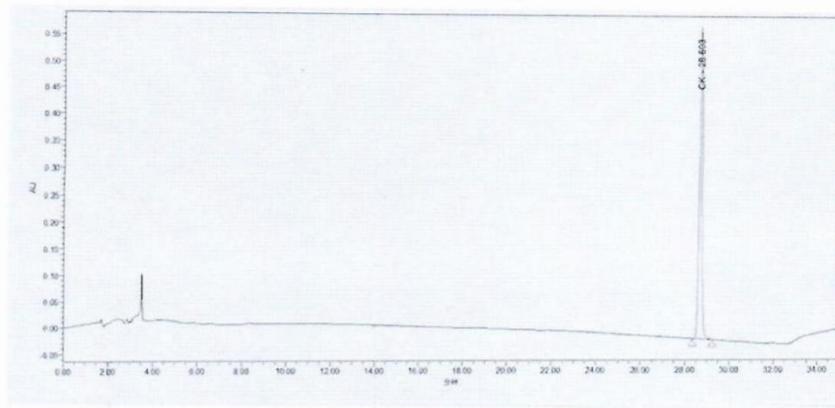
2.6 人参皂苷 CK 标准品和样品谱图

本方法确认实验中的人参皂苷 CK 标准品谱图, 精密度实验和正确度实验部分样品谱图以及典型样品谱图附在最后。

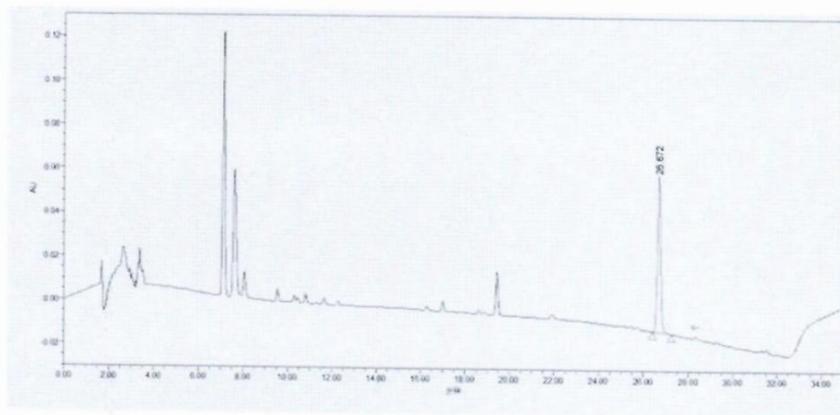
三、结论

经过对方法《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行验证实验, 对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。验证实验结果表明, 在 0.05-1.00 mg/L 浓度范围内, 方法的线性回归方程为 $y = 9610607x + 40197$, 相关系数 (r) 为 0.99959。对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品, 称样量为 0.2 g 时, 人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 12.5 mg/100g 和 50 mg/100g; 对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品, 称样量为 2 g 时, 人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.25 mg/100g 和 5.0 mg/100g。

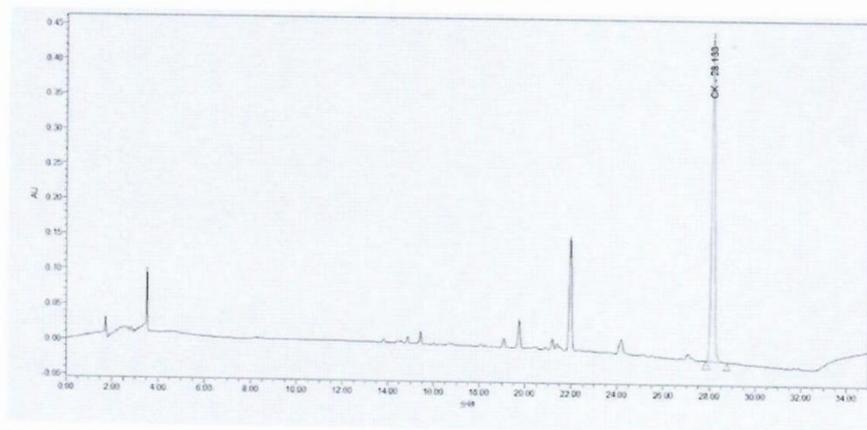
对低、中两个浓度水平的样品进行精密度实验结果显示保留时间的 RSD 在 0.46~1.39% 之间, 人参皂苷 CK 浓度的 RSD 在 0.88~3.61% 之间, 精密度均低于 5.0%, 说明方法的精密度较好。对低、中不同人参皂苷 CK 含量的两个样品进行加标实验, 平均加标回收率分别为 101.85% 和 107.77%, 加标回收率范围为 97.78%~110.0%, 可见该方法回收率高, 重复性好。典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 53.71 g/100g 和 0.091 g/100g, 精密度分别为 0.77% 和 1.68%。综合上述方法确认实验可知, 该方法能满足人参皂苷 CK 含量的测定要求。



附图 1 人参皂苷 CK 标准溶液色谱图



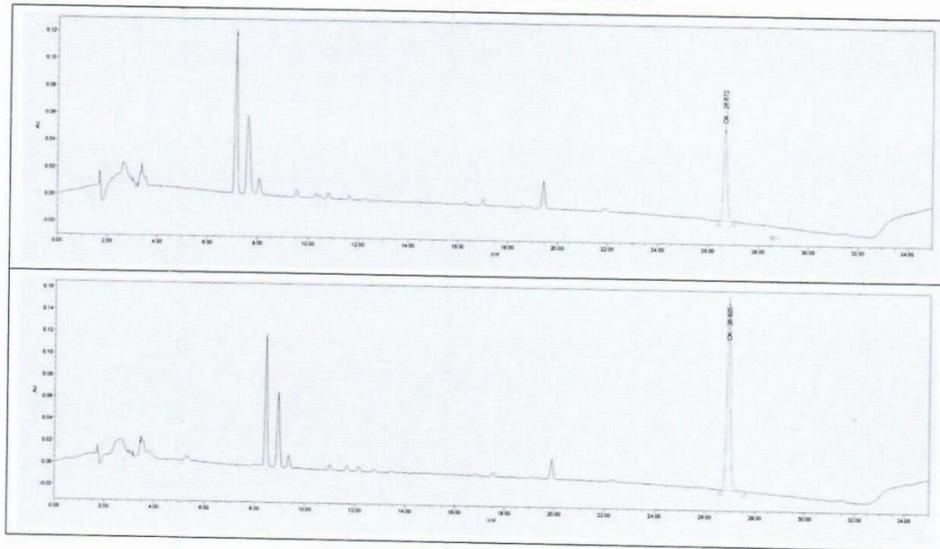
附图 2 精密度实验样品 1 色谱图



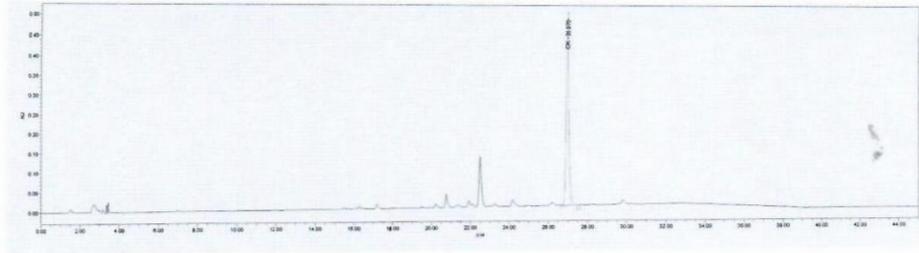
附图 3 精密度实验样品 2 色谱图



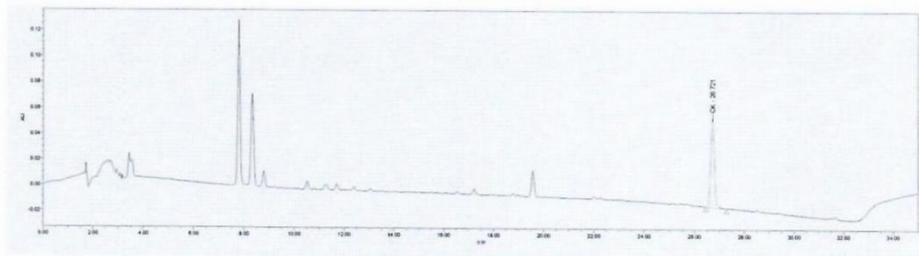
附图 4 样品 1 加标前后色谱图



附图 5 样品 2 加标前后色谱图



附图 6 典型样品 DY1 色谱图



附图 7 典型样品 DY2 色谱图

人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法
方法确认报告

项目名称 人参皂苷 CK 的含量测定
高效液相色谱法
委托单位 广州光亚新汉方化妆品科技有限公司
委托时间 2024 年 5 月 21 日
验证单位 广东省科学院化工研究所（盖章）
编 制 李欢玲（签名）
验证时间 2024 年 5 月 25 日 - 2024 年 6 月 25 日

一、方法确认内容

对广州光亚新汉方化妆品科技有限公司提供的《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。该方法由广东省分析测试协会立项为团标标准，立项编号为 GAIA/JH20230203，项目名称“人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法”。方法确认的样品基质为固体样品和液体样品。

二、方法确认实验结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：高效液相色谱仪 Waters ACQUITY Arc。

1.2 色谱柱：大连依利特 Supersil ODS2 C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）。

1.3 色谱条件：

a) 流动相：水-乙腈溶液；

b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	81	19
9.00	68	32
20.00	43	57
29.00	10	90
35.00	81	19

c) 流速：1.0 mL/min；

d) 柱温：30 °C；

e) 进样量：20 μL。

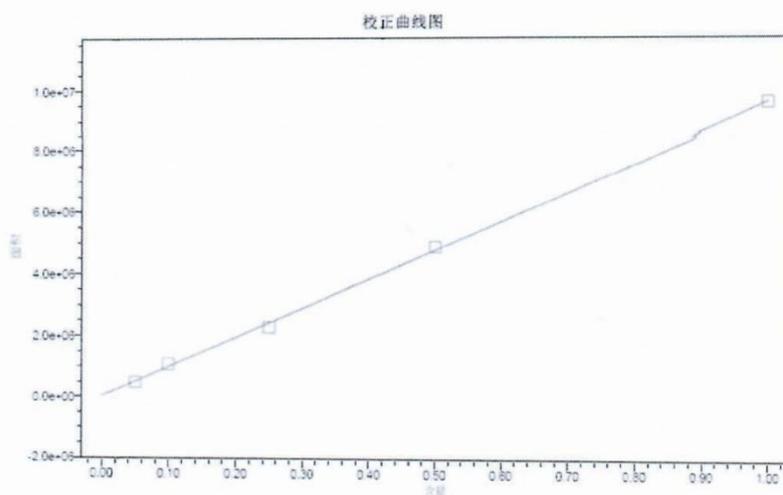
1.4 紫外检测波长：203 nm

2. 方法学评价

2.1 方法线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

配制人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 mg/mL 的甲醇溶液，过膜后分别上机。实验结果由图 1 可知，在 0.05-1.00 mg/mL 范围内，人参皂苷 CK 的浓度与峰面积呈现较好的线性关系，回归方程为 $y = 9610607x + 40197$ ，相关系数 (r) 为 0.99959。当仪器信噪比 (S/N) 约为 3 和 10 时，人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 1.0 mg/L 和 4.0 mg/L，

对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 12.5 mg/100g 和 50 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.25 mg/100g 和 5.0 mg/100g。



A: 4.019689e+04; B: 9.610607e+06; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.999170; 名称 CK;
处理方法 CK062802; 拟合类型 线性 (一阶); 校正曲线 ID 1849

图 1 人参皂苷 CK 的校准曲线

2.2 仪器重复性

本实验将 0.50 mg/mL 的 CK 标准品甲醇溶液，重复进样 6 次，计算人参皂苷 CK 的保留时间和峰面积的 RSD 值，得到保留时间的 RSD 为 1.04%，人参皂苷 CK 峰面积的 RSD 为 2.82% 间，说明仪器的重复性良好，满足质控要求，实验结果见表 2。

表 2 仪器重复性试验(n=6)

人参皂苷 CK	平行	保留时间 RT/min			峰面积		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
0.50 mg/mL	1	28.23			5358748		
	2	28.69			4958740		
	3	28.68	28.35	1.04	5239661	5241316	2.82
	4	27.92			5328835		
	5	28.24			5329392		
	6	28.35			5232521		

2.3 方法精密度

本实验室采用两个浓度水平的样品进行精密度测试,按实验方法,从称量开始进行 8 次平行测定,计算人参皂苷 CK 的保留时间和含量的 RSD 值,得到保留时间的 RSD 在 0.46~1.39%之间,人参皂苷 CK 含量的 RSD 在 0.88~3.61%间,说明方法的精密度良好,满足质控要求,实验结果见表 3。

表 3 精密度试验(n=8)

人参皂苷 CK	平行	保留时间 RT/min			含量/(g/100g)		
		检测值	均值	RSD/%	检测值	均值	RSD/%
样品 1	1	27.75			39.52		
	2	28.49			43.26		
	3	27.71			40.48		
	4	27.83	28.13	1.39	39.64	41.40	3.61
	5	27.91			40.79		
	6	28.61			43.03		
	7	28.63			42.60		
		8	28.13			41.90	
样品 2	1	26.67			0.084		
	2	26.72			0.085		
	3	26.61			0.084		
	4	26.72	26.75	0.46	0.085	0.085	0.88
	5	26.72			0.084		
	6	26.96			0.084		
	7	26.69			0.085		
		8	26.92			0.086	

2.4 方法准确度

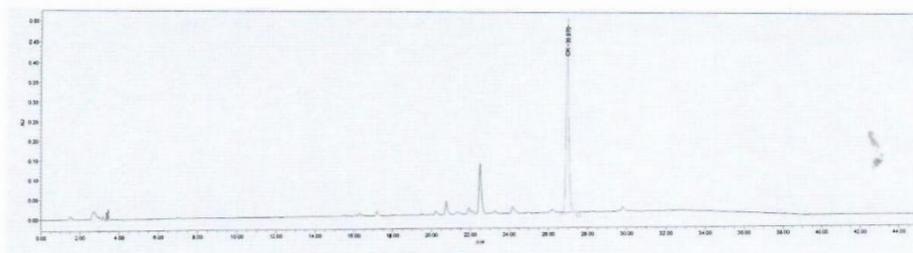
本实验室对不同的人参皂苷 CK 含量的两个样品进行 2 个不同浓度水平的加标实验。根据方法处理样品, 并经过必要稀释, 往处理好的样品甲醇溶液加入近似等量的标准品, 标准液浓度为 1 mg/mL, 计算加标回收率及相对标准偏差。结果如表 4 所示, 可见两次 6 平行加标实际的平均加标回收率分别为 101.85% 和 107.77%, 加标回收率范围为 97.78%~110.0%, 可见该方法回收率高, 重复性好。

表 4 加标实验结果 (n=6)

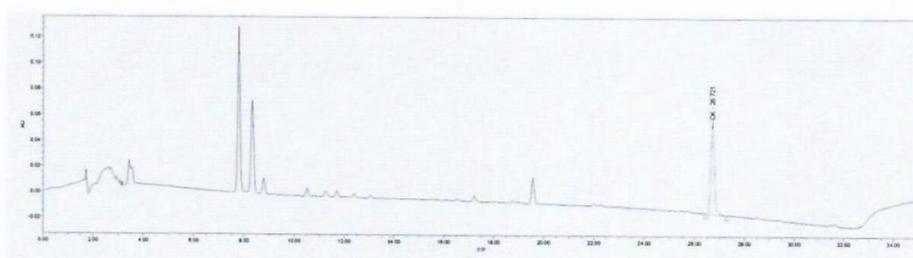
人参皂苷 CK	样品测定值 (mg/mL)	平行	加标量 (mg)	加标测定 值/(mg/mL)	加标回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
样品 1	0.40	1	0.045	0.044	97.78	101.85	3.21
		2		0.044	97.78		
		3		0.046	102.22		
		4		0.047	104.44		
		5		0.047	104.44		
		6		0.047	104.44		
样品 2	0.06	1	0.10	0.1079	107.9	107.77	1.65
		2		0.1059	105.9		
		3		0.1055	105.5		
		4		0.1081	108.1		
		5		0.1100	110.0		
		6		0.1092	109.2		

2.5 典型样品检测结果及精密度

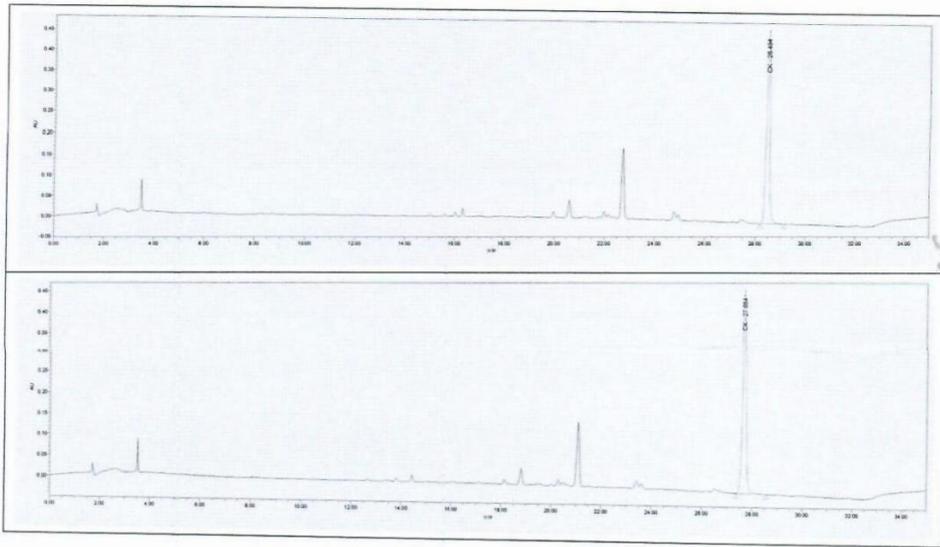
典型样品 DY1 为固体样品含量大于 10%, 称取约 0.2 g (精确至 0.0001 g), 按方法进行样品处理, 稀释 10 倍; 典型样品 DY2 为固体样品含量小于 10%, 称取约 2 g (精确至 0.0001 g)。从称量开始平行实验测试三次, 测试结果和精密度见表 4。可见典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 53.71 g/100g、0.091 g/100g, 精密度分别为 0.77%、1.68%。



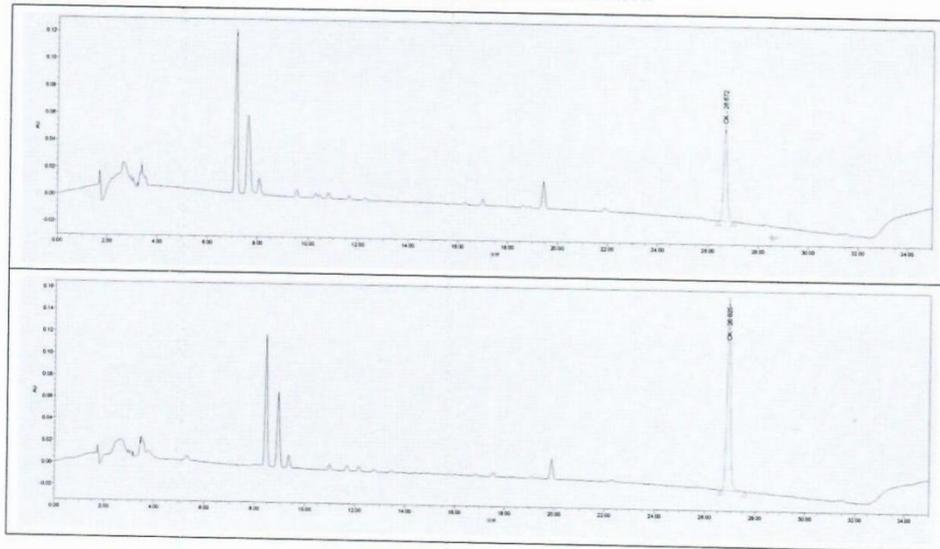
附图 6 典型样品 DY1 色谱图



附图 7 典型样品 DY2 色谱图



附图4 样品1 加标前后色谱图

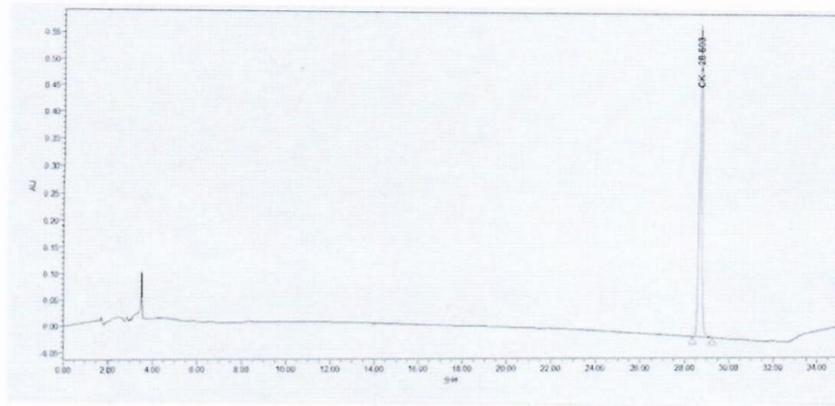


附图5 样品2 加标前后色谱图

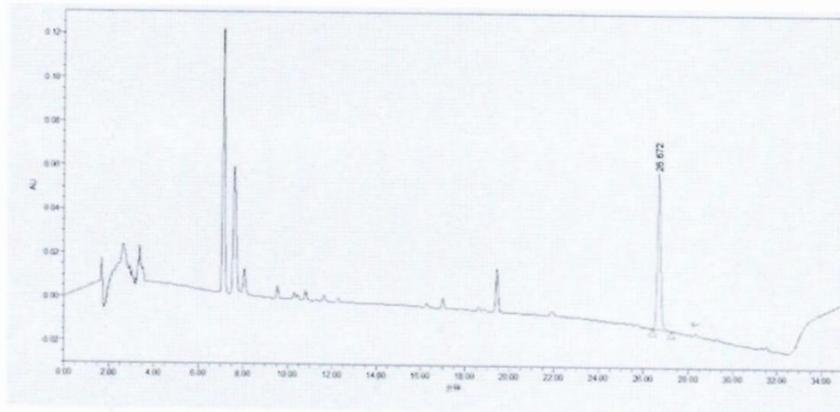
三、结论

经过对方法《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行验证实验, 对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。验证实验结果表明, 在 0.05-1.00 mg/L 浓度范围内, 方法的线性回归方程为 $y = 9610607x + 40197$, 相关系数 (r) 为 0.99959。对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品, 称样量为 0.2 g 时, 人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 12.5 mg/100g 和 50 mg/100g; 对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品, 称样量为 2 g 时, 人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.25 mg/100g 和 5.0 mg/100g。

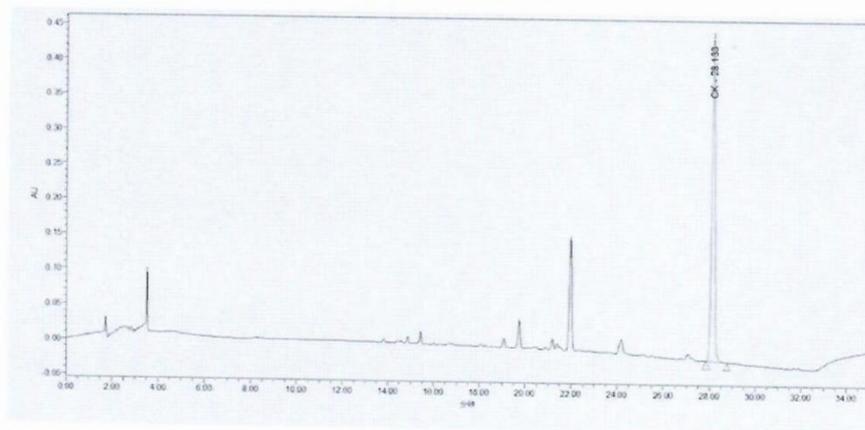
对低、中两个浓度水平的样品进行精密度实验结果显示保留时间的 RSD 在 0.46~1.39% 之间, 人参皂苷 CK 浓度的 RSD 在 0.88~3.61% 之间, 精密度均低于 5.0%, 说明方法的精密度较好。对低、中不同人参皂苷 CK 含量的两个样品进行加标实验, 平均加标回收率分别为 101.85% 和 107.77%, 加标回收率范围为 97.78%~110.0%, 可见该方法回收率高, 重复性好。典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 53.71 g/100g 和 0.091 g/100g, 精密度分别为 0.77% 和 1.68%。综合上述方法确认实验可知, 该方法能满足人参皂苷 CK 含量的测定要求。



附图 1 人参皂苷 CK 标准溶液色谱图



附图 2 精密度实验样品 1 色谱图



附图 3 精密度实验样品 2 色谱图

表 5 典型样品测定结果 (n=3)

典型样品	平行	人参皂苷含量 (g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度 (%)
DY1	1	54.08	53.71	0.77
	2	53.78		
	3	53.26		
DY2	1	0.089	0.091	1.68
	2	0.091		
	3	0.092		

2.6 人参皂苷 CK 标准品和样品谱图

本方法确认实验中的人参皂苷 CK 标准品谱图，精密度实验和正确度实验部分样品谱图以及典型样品谱图附在最后。

人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法
方法确认报告

项目名称 人参皂苷 CK 的含量测定
高效液相色谱法

委托单位 广州光亚新汉方化妆品科技有限公司

委托时间 2024年5月21日

验证单位 广州恒滔贸易有限公司

验证时间 2024年6月25日 - 2024年7月30日



一、方法确认内容

对广州光亚新汉方化妆品科技有限公司提供的《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行方法学验证。该方法由广东省分析测试协会立项为团标标准，立项编号为 GAIA/JH20230203，项目名称“人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法”。方法确认的样品基质为固体样品和液体样品。

二、方法确认实验结果

1. 仪器条件

1.1 仪器及型号：高效液相色谱仪 岛津 LC-20AT。

1.2 色谱柱：PAH C18 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm，Waters）

1.3 色谱条件：

a) 流动相：水-乙腈溶液；

b) 洗脱方式：梯度洗脱，梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	水 (%)	乙腈 (%)
0	81	19
9.00	68	32
20.00	43	57
29.00	10	90
35.00	81	19

c) 流速：1.0 mL/min；

d) 柱温：30 °C；

e) 进样量：20 μL。

f) 紫外检测波长：203 nm

2. 方法学评价

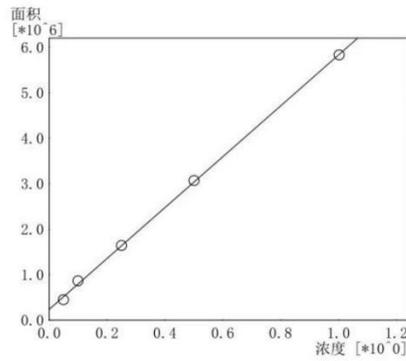
2.1 方法线性回归方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限

配制人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00 mg/mL 的甲醇溶液，过膜后分别上机。实验结果由图 1 可知，在 0.05-0.10 mg/mL 范围内，人参皂苷 CK 的浓度与峰面积呈现较好的线性关系，回归方程为 $Y = (5.58619e+006) X + 240930$ ，相关系数 (r) 为 0.9994885。当仪器信噪比 (S/N) 约为 3 和 10 时，人参皂苷 CK 标准品浓度分别为 0.15

mg/L 和 0.5 mg/L, 对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品, 称样量为 0.2 g 时, 人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.9 mg/100g 和 6.2 mg/100g; 对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品, 称样量为 2 g 时, 人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 0.2 mg/100g 和 0.6 mg/100g。

==== Shimadzu LabSolutions 校准曲线 ====

ID号 : 1
 名称 : RT:29.273
 定量方法 : 外标法
 函数 : $f(x)=5.58619e+006*x+240930$
 Rr1=0.9997442 Rr2=0.9994885 RSS=9.690689e+009
 平均RF: 7.209518e+006 RF SD: 1.470270e+006 RF RSD: 20.393454
 曲线类型 : 直线
 零点 : 未过原点
 加权 : 无
 检测器名 : PDA



级别	浓度(比)	平均面积	面积
1	0.05016	450315	450315
2	0.10032	862601	862601
3	0.2508	1640685	1640685
4	0.5016	3069129	3069129
5	1.0032	5829638	5829638

图 1 人参皂苷 CK 的校正曲线

2.2 方法精密度

本实验室采用两个浓度水平的样品进行精密度测试, 按实验方法, 从称量开始进行 6 次平行测定, 计算人参皂苷 CK 含量的 RSD 值, 人参皂苷 CK 含量的 RSD 值分别为 4.68% 和 7.63%, 实验结果见表 2。

表 2 精密度试验(n=6)

人参皂苷 CK	平行	含量/(g/100g)		
		检测值	均值	RSD/%
样品 1	1	62.9285	60.0818	4.68
	2	58.6605		
	3	60.6805		
	4	55.125		
	5	61.8887		
	6	61.2073		
样品 2	1	0.0897	0.0874	7.63
	2	0.083		
	3	0.0996		
	4	0.082		
	5	0.087		
	6	0.083		

2.3 方法准确度

本实验室对不同的人参皂苷 CK 含量的两个样品进行 2 个不同浓度水平的加标实验。根据方法处理样品, 并经过必要稀释, 往处理好的样品甲醇溶液加入近似等量的标准品, 标准液浓度为 1 mg/mL, 计算加标回收率及相对标准偏差。结果如表 3 所示, 可见加标回收率范围为 91.85%-112.99%, 可见该方法回收率高, 重复性好。

表 3 加标实验结果 (n=6)

人参皂苷	平行	加标量 (μL)	加标回收率 (%)	平均 (%)	RSD (%)
CK					
样品 1	1		100.0299		
	2		112.9884		
	3	300	94.2982	98.3436	7.8089
	4		92.2049		
	5		96.7903		
	6		93.7500		
样品 2	1		93.4908		
	2		100.9669		
	3	100	91.8461	100.1695	7.0005
	4		98.4250		
	5		107.3963		
	6		108.8915		

2.4 典型样品检测结果及精密度

典型样品 DY1 为固体样品含量大于 10%，称取约 0.2 g (精确至 0.0001 g)，按方法进行样品处理，稀释 10 倍；典型样品 DY2 为固体样品含量小于 10%，称取约 2 g (精确至 0.0001 g)。从称量开始平行实验测试三次，测试结果和精密度见表 4。可见典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 61.26% 和 0.092%，精密度分别为 0.99% 与 7.37%。

表 4 典型样品测定结果 (n=3)

典型样品	平行	人参皂苷含量 (g/100g)	平均值 (g/100g)	精密度 (%)
DY1	1	60.68		
	2	61.89	61.26	0.99
	3	61.21		
1	0.090			
DY2	2	0.100	0.092	7.37
	3	0.087		

2.5 人参皂苷 CK 标准品和样品谱图

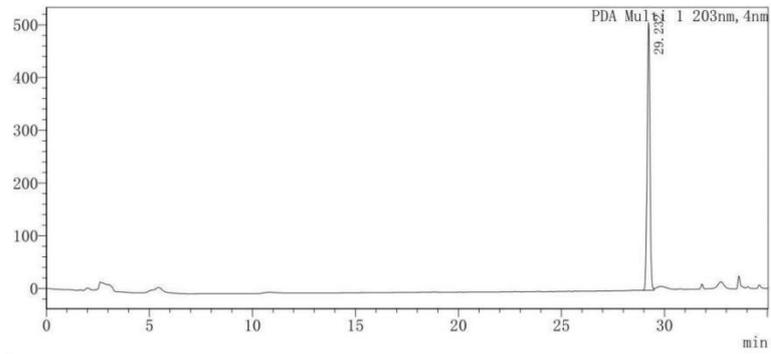
本方法确认实验中的人参皂苷 CK 标准品谱图，精密度实验和正确度实验部分样品谱图以及典型样品谱图附在最后。

三、结论

经过对方法《人参皂苷 CK 的含量测定 高效液相色谱法》进行验证实验，对其线性范围、方法检出限、方法定量限、精密度、回收率等指标进行方法学验证。验证实验结果表明，在 0.05-1.00 mg/L 浓度范围内，方法的线性回归方程为 $Y=(5.58619e+006)X+240930$ ，相关系数 (r) 为 0.9994885。对于人参皂苷 CK 含量大于 10% 的样品，称样量为 0.2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 1.9 mg/100g 和 6.2 mg/100g；对于人参皂苷 CK 含量小于 10% 的样品，称样量为 2 g 时，人参皂苷 CK 检出限和定量限分别为 0.2 mg/100g 和 0.6 mg/100g。

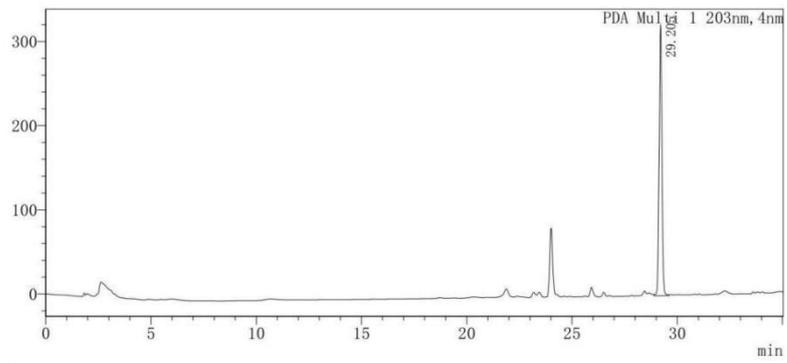
对两个浓度水平的样品进行精密度实验结果显示人参皂苷 CK 浓度的 RSD 在 4.68%-7.63% 之间，说明方法的精密度较好。加标实验中回收率范围为 91.85%-112.99%，可见该方法回收率较好。典型样品 DY1 和 DY2 的测定结果分别为 61.26 g/100g 和 0.092g/100g，精密度分别为 0.99% 和 7.37%。

<色谱图>
mAU



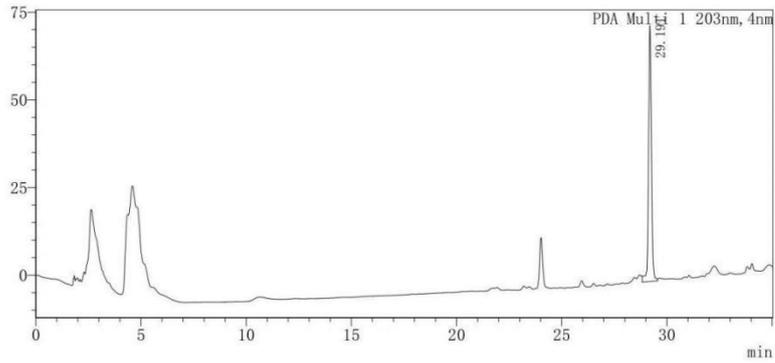
附图1 人参皂苷CK标准溶液色谱图

<色谱图>
mAU

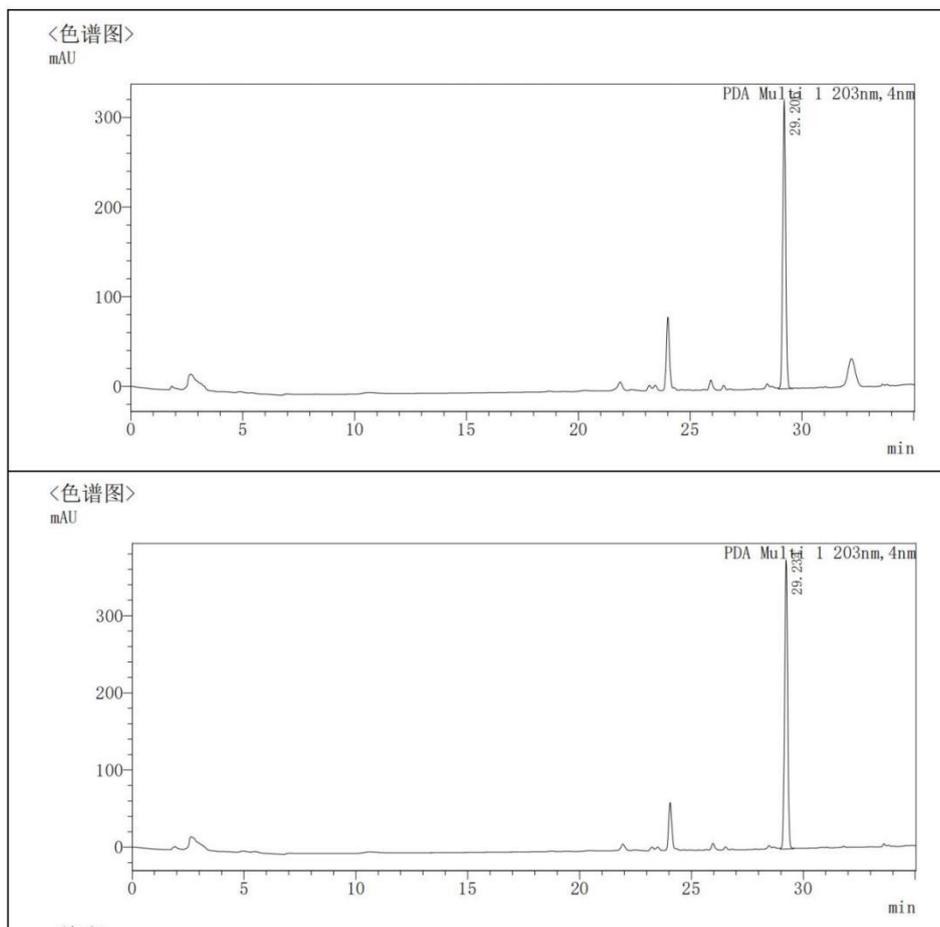


附图2 精密度实验样品1色谱图

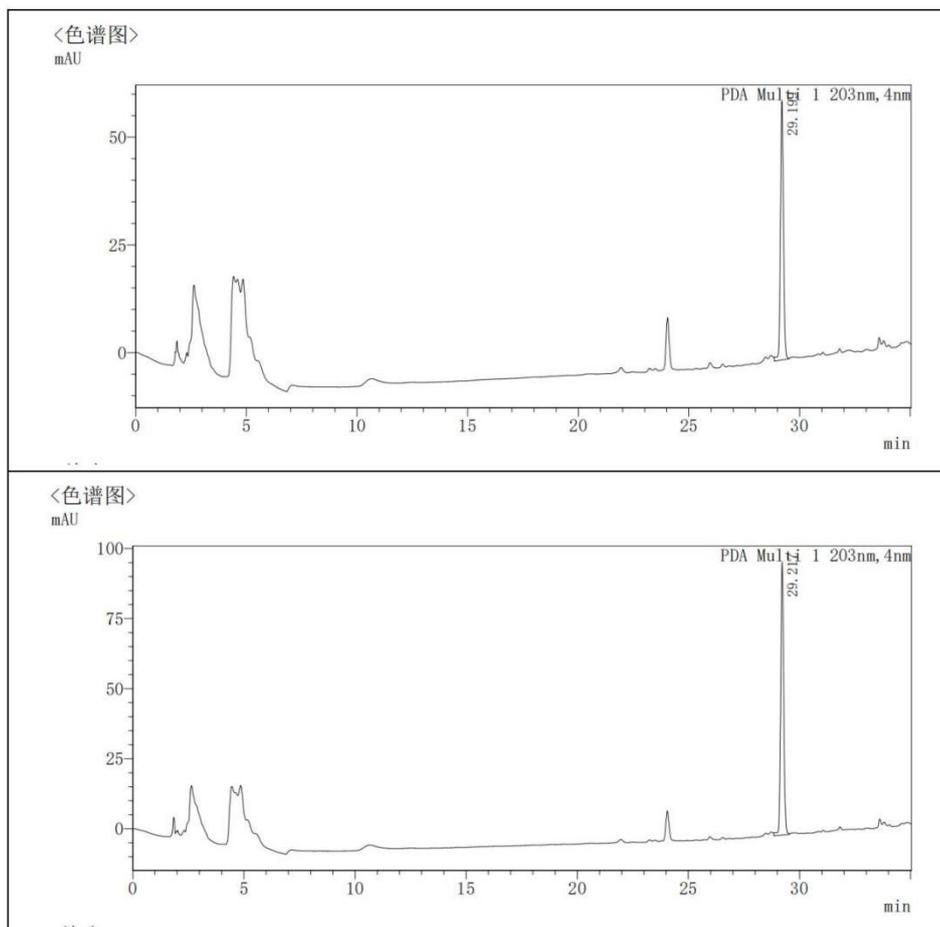
<色谱图>
mAU



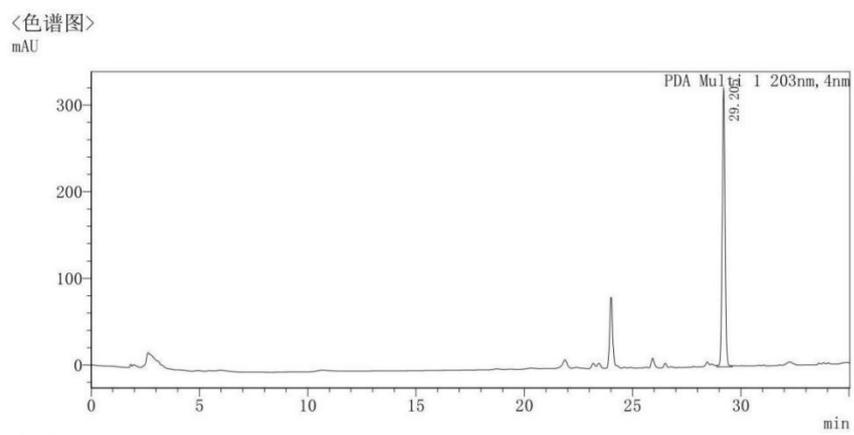
附图3 精密度实验样品2色谱图



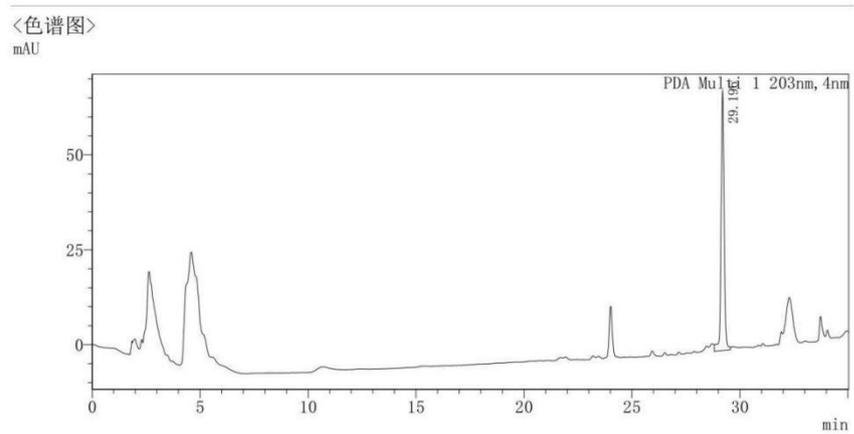
附图4 样品1加标前后色谱图



附图5 样品2加标前后色谱图



附图6 典型样品 DY1 色谱图



附图7 典型样品 DY2 色谱图

