

ICS 65.020
B 39

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1842—2010

人参皂苷的测定

Determination of ginsenosides in ginseng

2010-05-20 发布

2010-09-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出并归口。

本标准起草单位：农业部参茸产品质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：陈丹、李月茹、侯志广、王艳梅、初丽伟、潘浦群、宋桂茹。

人参皂苷的测定

1 范围

本标准规定了测定人参中 9 种人参皂苷的高效液相色谱方法。

本标准适用于人参中人参皂苷 Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd、Re、Rg1、Rg2 和 Rf 的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 15517.1 模压红参分等质量标准

3 原理

试样经乙醚脱脂后,用甲醇索氏提取,提取后的样液用 SPE C₁₈ 柱净化,利用高效液相色谱仪(紫外检测器)对试样中的 9 种人参皂苷进行分离和测定,外标法定量。

4 试剂和材料

除非有说明,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 中规定的一级水。

4.1 70%乙醇溶液:取 700 mL 无水乙醇,用去离子水稀释至 1 000 mL。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 乙醚。

4.4 人参皂苷标准品:Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd、Re、Rg1、Rg2、Rf(含量 98%)。

4.5 标准混合溶液:逐一准确称取 0.183 g Re、0.163 g Rg1、0.102 g Rf、0.102 g Rg2、0.255 g Rb1、0.306 g Rc、0.367 g Rb2、0.408 g Rb3、0.214 g Rd(精确至 0.000 1 g)人参皂苷标准品,置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容,配制成质量浓度为 1.8 g/L、1.6 g/L、1.0 g/L、1.0 g/L、2.5 g/L、3.0 g/L、3.6 g/L、4.0 g/L 和 2.1 g/L 的混合标准溶液,贮存在-18℃以下冰箱中,有效期 6 个月。

5 仪器

5.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器。

5.2 电子天平:感量为 0.001 g。

5.3 电子天平:感量为 0.000 1 g。

5.4 旋转蒸发器。

5.5 索氏提取器。

5.6 控温水浴。

5.7 循环水多用真空泵。

5.8 粉碎机。

5.9 样品筛:孔径 0.25 mm。

5.10 SPE C₁₈小柱:1 000 mg 填料,6 mL。

5.11 微量进样器:5 μL~50 μL。

6 试样制备

按 GB/T 15517.1—1995 中 6.3 的规定执行。

7 分析步骤

7.1 样品提取

准确称取人参干样 2 g(精确至 0.001 g),加入 100 mL 乙醚于索氏提取器中,提取 1 h,弃去乙醚,待残渣中乙醚挥发干后,再加入甲醇回馏 8 h。

7.2 样品净化

7.2.1 SPE C₁₈柱的预处理

先用 20 mL 去离子水淋洗 SPE C₁₈柱,然后用 20 mL 的甲醇进行活化,再用 20 mL 去离子水平衡。待水与柱筛板近平时上样。

7.2.2 提取液的处理

提取液在 60℃ 水浴条件下,经旋转蒸发器减压浓缩至近干,氮气吹干,加入 4 mL 去离子水充分摇匀。取 2 mL 注入预先活化好的 SPE C₁₈柱中,待液面与柱筛板近平时,倒入 10 mL 去离子水淋洗 SPE C₁₈柱,弃去流出液,待淋洗液液面与柱筛板近平时,加入 25 mL 乙醇溶液(4.1)洗脱 SPE C₁₈柱,收集洗脱液于 50 mL 刻度试管中,氮气吹至 25 mL 以下,用甲醇定容至 25 mL,混匀后,用 0.2 μm 滤膜过滤,待测。

7.3 测定

7.3.1 仪器参考条件

7.3.1.1 色谱柱:C₁₈(4.6 mm×300 mm×0.5 μm)或相当者。

7.3.1.2 流动相:甲醇+水。

7.3.1.3 柱温:47℃。

7.3.1.4 流速:0.5 mL/min~0.8 mL/min。

7.3.1.5 检测波长:202 nm。

7.3.1.6 进样量:10 μL。

7.3.1.7 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	甲 醇 %	流 速 mL/min
0~20	52	0.5
20~23	52~57	0.5~0.8
23~36	57	0.8
36~39	57~65	0.8
39~71	65	0.8
71~74	65~52	0.8~0.5
74~84	52	0.5

7.3.2 标准曲线的绘制

用混合皂苷标准工作液(4.5)按着梯度洗脱程序进行分析。准确吸取 0 mL、2 mL、4 mL、6 mL、

8 mL、10 mL 混合皂苷标准溶液(4.5),分别置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,准确吸取 10 μ L 各容量瓶中的标准溶液,分别注入液相色谱仪,记录峰面积。以各皂苷进样的质量浓度对其峰面积绘制标准曲线。

7.3.3 样品测定

准确吸取 10 μ L 供试样品溶液注入液相色谱仪,以保留时间定性,以待测液峰面积与标准溶液峰面积比较定量。色谱图参见附录 A。

7.3.4 空白实验

除不称取试样外,采用与试样完全相同的测定步骤进行平行操作。

8 结果计算

试样中人参皂苷的含量用质量分数 w 表示,单位为百分率(%),按公式(1)计算:

$$w = \frac{m_1 \times V_2}{m_2 \times V_1} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

m_1 ——试样中某种人参皂苷的质量,单位为克(g);

m_2 ——试样的质量,单位为克(g);

V_1 ——试样的进样体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——试样的定容体积,单位为毫升(mL)。

计算结果保留三位有效数字。

9 精密度

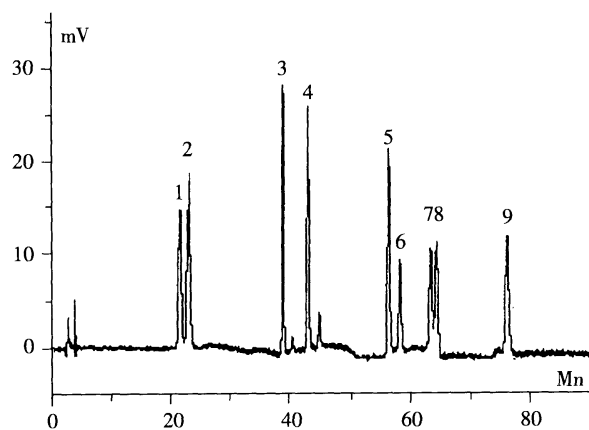
每种人参皂苷在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值算术平均值的 5%。

10 方法检出限

方法检出限分别为 Re:0.05 g/kg、Rg1:0.05 g/kg、Rf:0.05 g/kg、Rg2:0.05 g/kg、Rb1:0.07 g/kg、Rc:0.10 g/kg、Rb2:0.10 g/kg、Rb3:0.06 g/kg、Rd:0.06 g/kg。

附录 A
(资料性附录)

9 种人参皂苷标准品的液相色谱图



图示:1—Re;2—Rg1;3—Rf;4—Rg2;5—Rb1;6—Rc;7—Rb2;8—Rb3;9—Rd。

图 A. 1 9 种人参皂苷标准品的液相色谱图