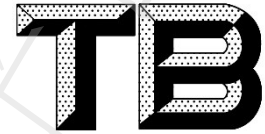


ICS 67.050

C.149

The logo consists of the letters 'T' and 'B' in a bold, stylized font. The 'T' is solid black, while the 'B' is filled with a halftone dot pattern.

中国营养保健食品协会团体标准

T/CNHFA 001-2021

人参稀有皂苷的含量测定

Determination of rare ginsenosides in ginseng

2021-9-29 发布

2021-11-1 实施

中国营养保健食品协会发布

引言

人参为五加科植物，在我国已有几千年的食用、药用历史，是珍贵且常用的中药材。由于人参具备了其他产品无法取代的药食两用价值，已在我国、韩国等亚洲国家形成了巨大的产业。目前在国际市场上，韩国的人参产业发展迅猛，其多样化的产品类型也得到了国际消费者的认可。在欧美，人参主要是以其提取物或粉末形态作为功能成分添加到健康补助食品、一般食品，或化妆品中进行销售。

人参皂苷是人参属植物的主要功效成分，具有增强免疫力等多种作用。人参皂苷分为常见人参皂苷和人参稀有皂苷，其中常见人参皂苷是指人参属植物中含量较高的人参皂苷，而人参稀有皂苷则是指人参属植物中含量较低的人参皂苷。研究表明，人参稀有皂苷具有较强的药理活性和较高的药用价值。目前，在全世界范围内，中国和韩国是主要的人参市场，但仅有韩国提出了人参稀有皂苷的概念。在法规标准方面，韩国《健康机能食品标示基准》中明确规定了原料人参和红参的质量规格，其中明确允许终产品可以标示人参皂苷含量，且含量应在标示值的80%以上。在市场销售方面，韩国市面上多数添加了人参的健康机能产品，会标示出人参稀有皂苷的含量。在我国，虽然对人参稀有皂苷的研究以及应用已在相关企业及科研院所中开展，但由于目前行业内对人参稀有皂苷没有明确的概念，缺失公认的检测方法，这些问题都严重影响了产品的研发和行业的发展。因此，制定本标准是十分有意义、有必要的。

前言

本文件根据 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》给出的规则起草。本文由中国营养保健食品协会归口。

本文件起草单位：哈尔滨葵花药业有限公司、威海海洋生物医药产业技术研究院有限公司、中食安信（北京）信息咨询有限公司。

本文件主要起草人：马薇薇、李惠静、费洪涛、郑成琳、薛珊珊、李潇凡。

人参稀有皂苷的含量测定

1 范围

本标准规定了同时测定人参、西洋参及其制品中 18 种人参稀有皂苷含量的高效液相色谱法。

本标准适用于人参、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 的含量测定。

2 术语与定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1 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。

3 原理

试样经提取后，用石油醚进行脱脂，再用 AB-8 大孔吸附树脂柱净化，干燥得供试样品；利用高效液相色谱仪（二极管阵列检测器）对供试样品中的 18 种人参皂苷进行分离和测定，外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 正丁醇、甲醇、石油醚：分析纯。

4.2 乙腈：色谱纯。

4.3 水：纯化水。

4.4 标准品：详见附录 A（内容包括标准品名称、CAS 号、分子式）

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：配二极管阵列（PDA）检测器。

5.2 分析天平：感量 0.00001 g。

5.3 旋转蒸发仪。

5.4 恒温干燥箱。

5.5 超声波清洗器。

5.6 分液漏斗。

5.7 具塞试管。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 提取

a) 固体样品：取供试样品粉碎成粉末，并过 20 目筛，精确称取该粉末样 10g 于 50mL 具塞试管中，加 40mL 甲醇于超声波清洗器中超声 30 分钟，滤过，滤渣再重复提取两次，合并三次滤液，装入 250mL 恒重的旋转蒸发瓶中，经减压浓缩干燥后，用石油醚对蒸干的皂苷进行脱脂 3 次，蒸干，转移至恒温干燥箱(105℃)中干燥至恒重，称重。

b) 液体及半固体样品：精密称取适量供试样品，置于圆底烧瓶中，并加入 20mL 纯化水混合，然后加入 20mL 水饱和正丁醇进行萃取，萃取液置于分液漏斗中静置分层，收集水饱和正丁醇层，萃取 3 次合并正丁醇层，装入 250mL 恒重的旋转蒸发瓶中，经减压浓缩干燥后，用石油醚对蒸干的皂苷进行脱脂，脱脂 3 次，蒸干，转移至恒温干燥箱(105℃)中干燥至恒重，称重。

6.1.2 净化

称取 20~30mg 6.1.1 中得到的样品，加 50mL 水溶解后，上 50mL 预先处理好的 AB-8 大孔吸附树脂柱进行净化，待皂苷被完全吸附后，用 150~200mL 水洗掉不被吸附的成分，然后用 150~200mL 70%~75%乙醇进行洗脱，完全洗脱后，蒸干，作为待测样品。

6.2 各皂苷测定

6.2.1 色谱参考条件

a) 色谱柱：C18 柱 (5 μm, φ 4.6mm×250mm)

b) 流动相：乙腈-水

c) 柱温：35℃

d) 流速：1mL/min

e) 检测波长：203nm

f) 进样量：20 μL

g) 梯度洗脱程序见表 1

表 1 流动相洗脱程序

时间/min	乙腈 A/%	水 (B)
0~20	20	80
20~31	20→30	80→70
31~35	30→33	70→67
35~45	33→47	67→53
45~50	47→55	53→45
50~75	55→85	45→15
75~85	85→100	15→0

6.3 标准曲线绘制

以甲醇为溶剂，配制 2mg/mL 的各皂苷标准溶液，分别取 1mL、3mL、4mL、5mL、6mL，分别置于 10mL 容量瓶中，加甲醇稀释至刻度，用高效液相色谱仪检测，记录峰面积，进样体积 20 μ L。以各皂苷进样的质量浓度对其峰面积绘制标准曲线。

6.4 含量测定

取净化后样品加甲醇溶解，并转移至 25mL 容量瓶中定容过滤。吸取 20 μ L 注入高效液相色谱仪检测。记录峰面积，与标准溶液峰面积比较定量。18 种人参稀有皂苷标准品的高效液相色谱图参见附录 B。

7 结果计算

人参皂苷占样品含量用质量分数 w 表示，单位为百分率（%），按公式（3）计算：

$$w = \frac{m_1 \times m_3}{m_2 \times m_4} \times 100 \dots \dots \dots (3)$$

式中：

m_1 ——净化样品中某种人参皂苷的质量，单位为克（g）

m_2 ——样品的质量，单位为克（g）

m_3 ——提取后样品的质量，单位为克（g）

m_4 ——净化取样的质量，单位为克（g）。

$$w = \frac{c \times A \times V \times p_1 \times p_2}{A_s \times m} \times 100$$

式中：

c——标准溶液中某种人参皂苷的摩尔浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

A——标样中某种人参皂苷的峰面积数值；

V——试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

p₁——提取样品的得率；

p₂——净化样品的得率；

A_s——标准溶液中某种人参皂苷的峰面积数值；

m——称取试样的质量，质量为克（g）。

8 检测精密度

8.1 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%。

附录 A 标准品目录

序号	标准品名称	CAS 号	分子式	分子量
1	人参皂苷 F2	62025-49-4	$C_{42}H_{72}O_{13}$	785.01
2	人参皂苷 20(S)-Rg3	14197-60-5	$C_{42}H_{72}O_{13}$	785.01
3	人参皂苷 20(R)-Rg3	38243-03-7	$C_{42}H_{72}O_{13}$	785.01
4	人参皂苷 Rk1	494753-69-4	$C_{42}H_{70}O_{12}$	767.01
5	人参皂苷 Rg5	186763-78-0	$C_{42}H_{70}O_{12}$	767.0
6	人参皂苷 20(S)-Rh2	7821-33-2	$C_{36}H_{62}O_8$	622.884
7	人参皂苷 20(R)-Rh2	112246-15-8	$C_{36}H_{62}O_8$	622.884
8	人参皂苷 Rk2	7821-33-2	$C_{36}H_{60}O_7$	604.869
9	人参皂苷 Rh3	105558-26-7	$C_{36}H_{60}O_7$	604.869
10	人参皂苷 20(S)-Rg2	52286-74-5	$C_{42}H_{72}O_{13}$	785.025
11	人参皂苷 20(R)-Rg2	80952-72-3	$C_{42}H_{72}O_{13}$	785.025
12	人参皂苷 Rg4	126223-28-7	$C_{42}H_{70}O_{12}$	767.01
13	人参皂苷 Rg6	147419-93-0	$C_{42}H_{70}O_{12}$	767.01
14	人参皂苷 20(S)-Rh1	63223-86-9	$C_{36}H_{62}O_9$	638.872
15	人参皂苷 20(R)-Rh1	80952-71-2	$C_{36}H_{62}O_9$	638.872
16	人参皂苷 Rh4	174721-08-5	$C_{36}H_{60}O_8$	620.868
17	人参皂苷 Rk3	364779-15-7	$C_{36}H_{60}O_8$	620.868
18	人参皂苷 CK	39262-14-1	$C_{36}H_{62}O_8$	622.8

附录 B

(资料性附录)

18种人参皂苷标准品的高效液相色谱图

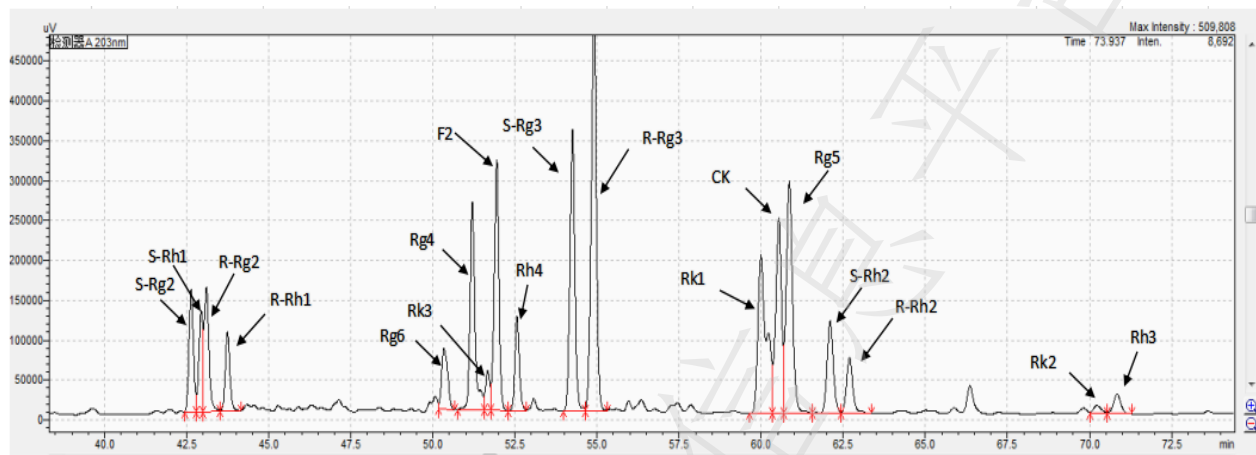


图.1 18种人参稀有皂苷标准品的高效液相色谱图