

T/AGIA

威海市文登区张家产镇西洋参产业协会团体标准

T/AGIA 006—2022

鲜西洋参中总皂苷含量测定

Determination of total saponins in fresh American ginseng

2022 - 08 - 25 发布

2022 - 08 - 29 实施

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。

本文件由威海市文登区张家产镇西洋参产业协会提出。

本文件由威海市文登区张家产镇西洋参产业协会归口。

本标准起草单位：威海市文登区道地参业发展有限公司、威海市文登区农业农村事务服务中心、山东继振西洋参产业有限公司、山东参乡传奇生物科技有限公司。

本标准起草人：衣少鹏、王坤宁、段媛媛、于红霞、任利鹏、刘旬胜、姜伟、王文水、蒋胜。

鲜西洋参中总皂苷含量测定

1 范围

本文件规定了鲜西洋参中总皂苷含量的分光光度测定方法。
本文件适用于鲜西洋参中总皂苷含量的测定。

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
《中华人民共和国药典》2020年版

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

本文件采用香草醛高氯酸-紫外分光光度法测定总皂苷含量。皂苷在强氧化性酸的作用下脱氢，再与香草醛加成显色，形成紫红色特征化合物。在一定浓度范围内，吸光度与皂苷类化合物的含量成正比，符合朗伯-比尔定律。

5 仪器和试剂

5.1 仪器

- 5.1.1 紫外-可见分光光度计。
- 5.1.2 索氏提取器。
- 5.1.3 恒温不锈钢水浴锅。

5.2 试剂

- 5.2.1 乙醚（沸程 60℃~90℃）、甲醇、硫酸、正丁醇、无水乙醇、香草醛均为分析纯。
- 5.2.2 人参皂苷 Re 对照品：购于中国食品药品检定研究院。
- 5.2.3 8%的香草醛乙醇试液：取香草醛 0.8g，加无水乙醇使溶解成 10mL，摇匀，即得（现用现配）。
- 5.2.4 72%硫酸溶液：取硫酸 72 mL，缓缓注入适量水中，冷却至室温，加水稀释至 100 mL，摇匀，即得。
- 5.2.5 对照品溶液的制备：精密称取人参皂苷 Re 对照品 10mg，置 10 mL 容量瓶中，加甲醇适量使溶解并稀释至刻度，摇匀，即得。

5.3 分析步骤

5.3.1 供试品溶液的制备

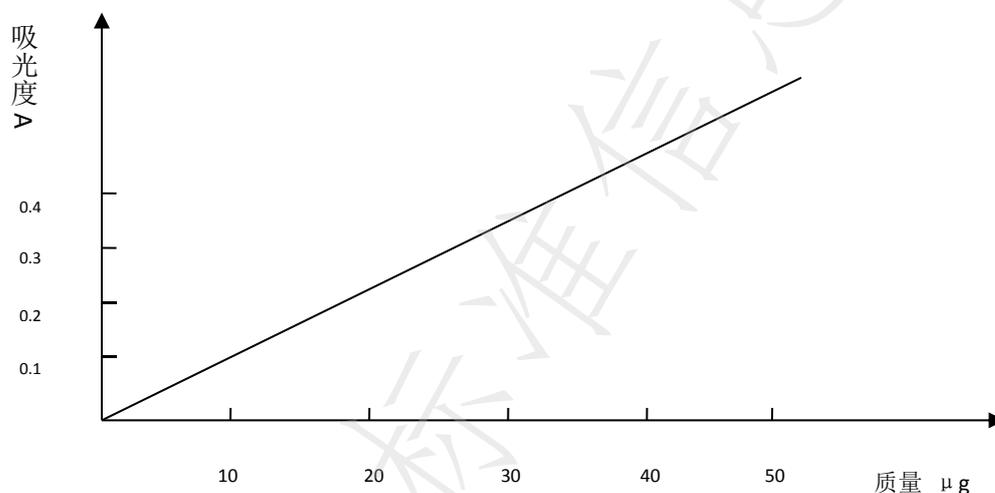
将鲜西洋参切成小块或薄片，放入组织捣碎机中捣成组织糜浆，取均匀的西洋参组织试样5g，精密称定，用中性滤纸包好，置索式提取器中，加入乙醚，煮沸回流提取1h，弃去乙醚液，供试品药包挥干乙醚溶剂，再置另一索式提取器中加入甲醇浸泡过夜，次日再加入适量甲醇开始煮沸回流提取，提取时间3小时以上，以人参皂苷提尽为准（定性鉴别阴性）。合并甲醇提取液，回收甲醇，少量甲醇提取液置蒸发皿中，水浴蒸干。用蒸馏水溶解提取物，加水30mL~40mL置分液漏斗中，用水饱和正丁醇30mL进行萃取，共4次。取上层液蒸干，加甲醇溶解后，转移至10mL容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，即得。

5.3.2 人参皂苷提取定性鉴别

供试品回流提取6次以后,取少量点于硅胶G薄层板(105℃活化10min)上,用10%硫酸乙醇液显色,即将薄层板置通风橱内,喷10%硫酸乙醇溶液,105℃加热10 min,总皂苷阳性应为紫红色斑点。也可将薄层板置于碘气缸中数秒钟即取出,以没有紫黄色斑点为阴性。判断人参皂苷是否提取完全,应以索式提取器中载供试品瓶中的溶液定性鉴别为阴性为准。

5.3.3 标准曲线的制作

精密吸取人参皂苷Re对照品10 μL、20 μL、30 μL、40 μL、60 μL,置磨口带塞试管中,水浴蒸干甲醇后,加入8%香草醛乙醇试液0.5mL,72%硫酸试液5mL,充分振摇混匀后置60℃恒温水浴上加热10 min,立即用冰水冷却10min,摇匀。以试剂作空白,按照紫外-可见分光光度法[《中华人民共和国药典》2020年版(通则0401)]于544nm波长处分别测定吸光度,绘制浓度吸收曲线,从标准曲线上读出供试品溶液中人参皂苷Re的重量,计算,即得。



5.3.4 测定

精密吸取供试品溶液20 μL,置具塞刻度试管中,蒸干甲醇后,加入8%香草醛乙醇试液0.5mL,72%硫酸试液5 mL,充分振摇混匀后置60℃恒温水浴上加热10min,立即用冰水冷却10 min,摇匀。以试剂作空白,按照紫外-可见分光光度法于波长544nm处分别测定吸光度。

5.3.5 分析结果计算

以质量分数表示的鲜西洋参中总皂苷含量(w)按式(B.1)计算:

$$w = ([CONC] / V_2 \times V_1) / m \times 100\% \dots\dots\dots (B.1)$$

式中[CONC]—— $a \times A + b$, a为回归系数, A为实测吸光度, b为截距;

W ——人参总皂苷含量

V_1 ——定容体积,单位为(mL)。

V_2 ——取样体积,单位为(μL)。

m ——供试品称样量,单位为毫克(mg)。