

T/GDFCA

广东省食品流通协会团体标准

T/GDFCA 081—XXXX

黄精及其提取物中薯蓣皂苷含量的测定 高效液相色谱法

Determination of dioscin content in polygonati rhizoma and its extract by HPLC method

（征求意见稿）

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。

2022 – XX – XX 发布

2022 – XX – XX 实施

广东省食品流通协会 发布

目 次

前言 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 试剂和材料 1

6 仪器和设备 1

7 测定步骤 2

8 结果计算 3

9 精密度 3

附录 A（资料性） 高效液相色谱法测定薯蓣皂苷的典型色谱图 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。

本文件由广东省食品流通协会提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

黄精及其提取物中薯蓣皂苷含量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了用高效液相色谱测定黄精和黄精提取物中薯蓣皂苷含量的方法，包括方法的原理、试剂、仪器和设备、试样制备、分析步骤、结果计算、精密度等要求。

本文件适用于黄精及其提取物中薯蓣皂苷含量的测定，其他植物性食品及中药材可参照执行。

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

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经表面活性剂预发酵后超声辅助提取，再经正丁醇液-液萃取，氮吹浓缩、复溶，经微孔滤膜过滤，采用液相色谱分离，紫外检测器检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯。水采用GB/T 6682 规定的一级水。

- 5.1 十二烷基硫酸钠（ $C_{12}H_{25}SO_4Na$, CAS 号: 151-21-3）；
- 5.2 正丁醇（ $CH_3(CH_2)_3OH$, CAS 号: 71-36-3），色谱纯；
- 5.3 乙腈（ C_2H_5N , CAS 号: 75-05-8）: 色谱纯；
- 5.4 甲醇（ CH_3OH , CAS 号: 67-56-1）: 色谱纯；
- 5.5 氯化钠（ $NaCl$, CAS 号: 7647-14-5）: 色谱纯；
- 5.6 高氯酸（ $HClO_4$, CAS 号: 7601-90-3）: 分析纯；
- 5.7 十二烷基硫酸钠溶液（0.024mol/L）：称取 6.9g 十二烷基硫酸钠（5.1）及 5.85g 氯化钠（5.5）溶解于 1L 水；
- 5.8 薯蓣皂苷标准品（CAS 号: 19057-60-4），纯度 $\geq 98\%$ ；
- 5.9 对照品溶液（500mg/L）：准确称取 5.0mg（精确至 0.1mg）薯蓣皂苷标准品（5.8），用甲醇（5.4）溶解，定容至 10mL，置 4℃条件下贮存，有效期 7 天。

6 仪器和设备

- 6.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器或二极管阵列检测器；
- 6.2 分析天平：感量 0.01mg 和 0.001 g；
- 6.3 水浴锅；
- 6.4 高速粉碎机；
- 6.5 超声波清洗器；

- 6.6 离心机：转速不低于 5000r/min；
- 6.7 旋转蒸发仪；
- 6.8 微孔滤膜：0.22 μm，有机相型；
- 6.9 其它实验室常用器皿：如离心管、鸡心瓶等。

7 测定步骤

7.1 试样制备

取固体样品 50g，粉碎后使其全部可通过 80 目标标准网筛，放入聚乙烯瓶或袋中，密封，并标明标记，于常温下保存。

7.2 前处理

- 7.2.1 准确称取试样 1.0g（精确至 0.001g）于 50mL 离心管中，加入 25mL 十二烷基硫酸钠溶液（5.7）浸泡 8h 后，在 30℃条件下超声辅助提取 40min。
- 7.2.2 将超声提取完成的黄精粉末试样补足试剂至 25mL，5000r/min 离心 3min，转移上清液至另一 50mL 离心管中，分别加入 20mL 正丁醇萃取两次，合并两次上层萃取液至 100mL 平底烧瓶中。
- 7.2.3 将萃取液于 40℃水浴旋转蒸发至近干，加入 20mL 甲醇（5.4）溶解残渣，溶液过 0.22μm 有机相滤膜，用于测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱：C₁₈色谱柱，250 mm × 4.6 mm，5 μm，或性能相当者
- b) 柱温：30 °C
- c) 检测波长：203 nm
- d) 进样量：10 μL
- e) 流速：1.0 mL/min
- f) 流动相及梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速（mL/min）	流动相A（乙腈）/%	流动相B（水）/%
0.00	0.4	40	60
5.00	0.4	40	60
15.00	0.4	70	30
18.00	0.4	100	0
20.00	0.4	40	60

7.3.2 液相色谱测定

7.3.2.1 标准曲线的制作

分别移取对照品溶液（5.10）0.10mL，0.20mL，0.30mL，0.40mL，0.50mL，0.60mL 于 10mL 具塞试管中，挥尽溶剂，分别准确加入 5.0 mL 高氯酸，于 70℃水浴 20min，冰水浴 10min，在 408 nm 波长处测定吸收度，以薯蓣皂苷对照品的浓度为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线，在 0.1~0.6mg/mL 范围内，相关系数不低于 0.995，薯蓣皂苷标准色谱图参见附录 A 图 A.1。

7.3.2.2 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪，根据保留时间和吸收光谱图定性，外标法峰面积定量。待测样液中的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围的则应稀释后重新进样分析。

7.4 空白试验

不称取试样，按 7.2-7.3 的步骤做空白实验，确认不含有干扰待测组分的物质。

8 结果计算

试样中薯蓣皂苷的含量按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X——试样中薯蓣皂苷含量（mg/g）；
- c——进样溶液中薯蓣皂苷的色谱峰由标准曲线所获得薯蓣皂苷的浓度（mg/mL）；
- V——试样溶液定容体积，20mL；
- m——试样称样量（g）。

注：计算结果应扣除空白值，计算结果保留三位有效数字。

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数平均值的 10%。

附录 A
(资料性)
高效液相色谱法测定薯蓣皂苷的典型色谱图

A.1 薯蓣皂苷标准物质色谱图，见图 A.1。

