

T/QAS

团 体 标 准

T/QAS XXX—2025

甘青青兰中绿原酸和胡麻苷含量的测定 高效液相色谱法

（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。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

青海省标准化协会 发布

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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国科学院西北高原生物研究所提出。

本文件由青海省标准化协会归口。

本文件起草单位：中国科学院西北高原生物研究所、中国科学院新疆理化技术研究所、西宁海关技术中心、青海省心血管病专科医院、青海省药品检验检测院、淮安市食品药品检验所。

本文件主要起草人：杲秀珍、李玉林、陈涛、谭亮、俞泽帆、丁成丽、薛宾、海玥、达洛嘉、王萍。

甘青青兰中绿原酸和胡麻苷含量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了甘青青兰中绿原酸和胡麻苷含量测定的高效液相色谱法。

本文件适用于甘青青兰及其相关药品（秘制清凉丸、二十六味通经胶囊、八味安宁丸、二十五味红花丸等）的测定。其他藏药中其主要成分为绿原酸和胡麻苷可参照本文件执行。

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实验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

甘青青兰中绿原酸和胡麻苷，用 50%乙醇热回流提取，用 0.22 μm 滤膜过滤，高效液相色谱—二极管阵列检测器测定，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

5.1.1 甲醇：色谱纯。

5.1.2 乙腈：色谱纯。

5.1.3 无水乙醇：分析纯。

5.1.4 甲酸：色谱纯。

5.1.5 绿原酸对照品：上海麦克林生化试剂有限公司，纯度为 98%。

5.1.6 胡麻苷对照品：中国科学院西北高原生物研究所，纯度为 98.73%。

5.1.7 实验用水：应符合 GB/T 6682 三级水要求的规定。

5.2 试剂配制

5.2.1 乙醇溶液（50%）的配制

量取无水乙醇 500 mL 于 1000 mL 容量瓶中，以水稀释至刻度，摇匀。

5.2.2 甲酸溶液（0.5%）配制

量取 5 mL 至 1000 mL 容量瓶中，以水稀释至刻度，摇匀。

5.2.3 胡麻苷对照品储备液（1.0 mg/mL）

精密称取胡麻苷 10.0 mg 置于 10 mL 容量瓶中，加入少量 DMSO 使之溶解，以甲醇稀释至刻度，混匀，定容。

5.2.4 绿原酸对照品储备液（1.0 mg/mL）

精密称取绿原酸 10.0 mg 置于 10 mL 容量瓶中，以甲醇稀释至刻度，混匀，定容。

5.2.5 绿原酸和胡麻苷混合标准工作液（500 μ g/mL）

精密量取绿原酸和胡麻苷储备液各 5 mL 置于 10 mL 容量瓶中，以甲醇稀释至刻度，混匀，定容，即得混合标准工作液。

6 仪器和设备

6.1 分析天平：感量为 ± 0.0001 g 和 ± 0.001 g。

6.2 高效液相色谱仪：配二极管阵列检测器。

6.3 水浴锅：带回流装置。

6.4 粉碎机：可将固体样品粉碎并通过 (250 ± 10) μ m（60 目）筛。

6.5 滤膜：有机相，0.22 μ m。

7 分析步骤

7.1 试样制备

7.1.1 试料的制备：用四分法取适量或取全部，用粉碎机粉碎后，过 60 目筛，混匀后用于检测。

7.1.2 试料的保存：室温保存。

7.2 供试品（甘青青兰试样）溶液的制备

取本品粉末（过 60 目筛）约 0.5 g，精密称定并加入 50%乙醇 40 mL，称定质量，置于水浴中加热回流 60 min，放冷，再称定质量，用 50%乙醇补足减失的质量，摇匀，过 0.22 μ m 滤膜，待测。

7.3 标准曲线的制备

7.3.1 吸取各对照品工作液 0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.8 mL、1.0 mL、2.0 mL，分别置于 6 个 5 mL 容量瓶中定容至刻度，摇匀，即得各系列浓度的对照品溶液。

7.3.2 精密吸取各系列浓度的对照品溶液 5 μ L，注入液相色谱仪测定，以对照品质量浓度 X (μ g/mL) 为横坐标，以峰面积 Y 为纵坐标，进行线性回归，求对照品回归方程和相关系数。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

7.4.1.1 色谱柱：Diamonsil C18 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m)，或相当者。

- 7.4.1.2 流动相：0.5%甲酸-水为 A 相，甲醇为 B 相。
- 7.4.1.3 分离条件：梯度洗脱（0 min~20 min, 78%A；20 min~35 min, 65%~55%A；35 min~40 min, 5%A）。
- 7.4.1.4 流速：1.0 mL/min。
- 7.4.1.5 柱温：30 ℃。
- 7.4.1.6 检测波长：绿原酸 320 nm，胡麻苷 350 nm。
- 7.4.1.7 进样体积：5 μL。

7.4.2 测定

- 7.4.2.1 取试样溶液和相应的对照溶液，作多点校准，按外标法，以峰面积计算。
- 7.4.2.2 对照溶液及试样溶液中绿原酸和胡麻苷响应值在仪器检测的线性范围之内。
- 7.4.2.3 在上述色谱条件下，对照品溶液和试样溶液的高效液相色谱图见附录 A 和附录 B。

7.4.3 空白试验

除不加试料外，采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果的计算

试料中绿原酸和胡麻苷的含量，按公式（1）计算，计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定后的算术平均值表示，保留三位有效数字：

$$X = \frac{c \times v}{m} \times 10^{-4} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——供试试料中相应的绿原酸和胡麻苷的含量，单位为克每百克（g/100g）；

c ——试料溶液中相应的绿原酸和胡麻苷的浓度，单位为 μg/mL；

v ——试料的定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——称取试样的质量，单位为克（g）；

10^{-4} ——由 μg/g 换算为 g/100g 的转换因子。

9 检测方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法绿原酸和胡麻苷的检出限分别是 0.002 g/100g 和 0.001 g/100g。

9.2 准确度

本方法绿原酸在 10.2 μg/mL~204 μg/mL、胡麻苷在 10.5 μg/mL~209.2 μg/mL 浓度添加水平上的回收率为 60%~120%。

9.3 精密度

本方法在重复条件下两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

附录 A
(资料性)
对照品溶液色谱图

对照品溶液色谱图见图 A.1。

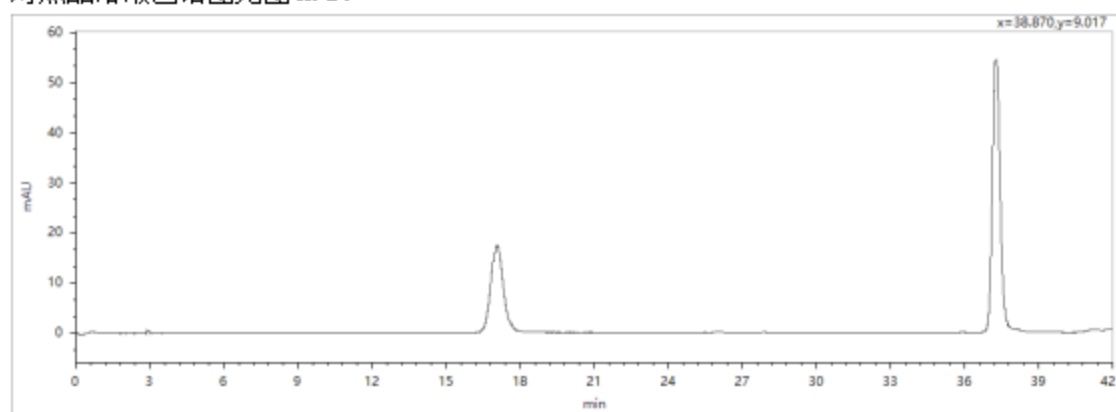


图 A.1 对照品溶液色谱图

附录 B
(资料性)
样品溶液色谱图

样品溶液色谱图见图 B.1。

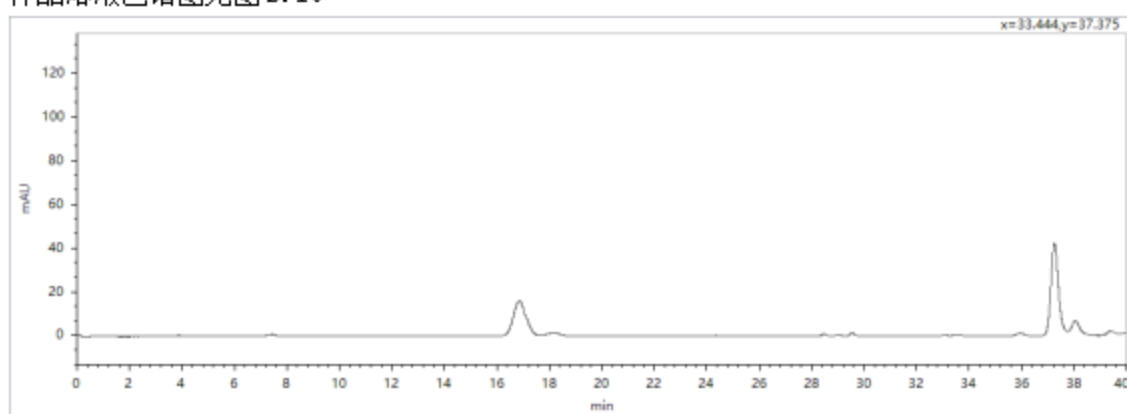


图 B.1 样品溶液色谱图