

T/QAS

团 体 标 准

T/QAS XXX—2025

诃子、毛诃子中没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸的测定 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》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、青海省心脑血管病专科医院、青海省药品检验检测院、东营市工业产品检验与计量检定中心。

本文件主要起草人：马家麟、李玉林、谭亮、陈涛、王环、汪园、杨丽、丁成丽、薛宾、海玥、达洛嘉、贾静。

诃子、毛诃子中没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了诃子、毛诃子中没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸测定的高效液相色谱法。

本文件适用于诃子、毛诃子及其炮制品中没食子酸、诃子酸、诃黎勒酸、鞣花酸的测定，其他药材及制剂可参照执行。

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实验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

诃子 (*Terminalia chebula* Retz. 或 *Terminalia chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt.)
是使君子科植物诃子或绒毛诃子的干燥果实。秋、冬二季果实成熟时采收，除去杂质，晒干。

3.2

毛诃子 (*Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb.)
是使君子科榄仁树属毗黎勒的干燥成熟果实。冬季果实成熟时采收，除去杂质，晒干。

3.3

没食子酸 gallic acid

分子式: $C_6H_5O_5$

分子量: 170.12

4 分子式和相对分子质量

4.1 诃子酸

分子式: $C_{44}H_{32}O_{27}$

相对分子质量: 956.68

4.2 诃黎勒酸

分子式： $C_{41}H_{30}O_{27}$

相对分子质量：954.66

4.3 鞣花酸

分子式： $C_{14}H_6O_8$

相对分子质量：302.194

5 原理

诃子、毛诃子试样中的没食子酸、诃子酸、诃黎勒酸、鞣花酸经70%甲醇超声提取后，用高效液相色谱法测定，以保留时间定性，外标法定量。

6 试剂和材料

6.1 试剂

6.1.1 甲醇(CH_3OH)：色谱纯。

6.1.2 磷酸(H_3PO_4)：色谱纯。

6.1.3 二甲基亚砜(C_2H_6OS)：色谱纯。

6.1.4 没食子酸(gallic acid)标准品：CAS号149-91-7，纯度 $\geq 98\%$ 。

6.1.5 诃子酸(chebulinic acid)标准品：CAS号18942-26-2，纯度 $\geq 98\%$ 。

6.1.6 诃黎勒酸(chebulagic acid)标准品：CAS号23094-71-5，纯度 $\geq 98\%$ 。

6.1.7 鞣花酸(ellagic acid)标准品：CAS号476-66-4，纯度 $\geq 98\%$ 。

注：除非另有规定，使用试剂均为分析纯。水为GB/T 6682中规定的一级水。

6.2 试剂配制

6.2.1 甲醇溶液(70%)的配制

量取甲醇700 mL，加水定容至1 000 mL水，混匀。

6.2.2 磷酸溶液(0.2%)的配制

量取磷酸2 mL，加水定容至1 000 mL水，混匀。

6.2.3 没食子酸对照品储备液(1.0 mg/mL)

精密称取没食子酸标准品25 mg(精确至0.01 mg)于25 mL容量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀，转移至棕色试剂瓶，储备液于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存，有效期为1个月。

6.2.4 诃黎勒酸对照品储备液(1.0 mg/mL)

精密称取诃黎勒酸标准品25 mg(精确至0.01 mg)于25 mL容量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀，临用现配。

6.2.5 诃子酸对照品储备液(1.0 mg/mL)

精密称取诃子酸标准品 25 mg（精确至 0.01 mg）于 25 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀，转移至棕色试剂瓶，储备液于-20 °C下保存，有效期为 1 个月。

6.2.6 鞣花酸对照品储备液（1.0 mg/mL）

精密称取鞣花酸标准品 25 mg（精确至 0.01 mg）于 25 mL 容量瓶中，用二甲基亚砜定容至刻度，摇匀，转移至棕色试剂瓶，储备液于常温下保存，有效期为 1 个月。

6.2.7 混合标准工作液的配制

分别移取 0.050 mL、0.100 mL、0.250 mL、0.500 mL、1.00 mL、2.00 mL、2.50 mL 没食子酸、诃子酸、诃黎勒酸、鞣花酸标准储备液置于 7 个 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，使混合工作液中 4 种待测组分浓度分别为 5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、25.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 、250 $\mu\text{g/mL}$ ，临用现配。

7 仪器和设备

7.1 液相色谱仪：配备紫外检测器。

7.2 分析天平：感量为 0.01 g、0.000 1 g 和 0.000 01 g。

7.3 超声波清洗机：频率 45 KHz，温度 20 °C ~ 80 °C，时间 1 min ~ 60 min。

7.4 药材粉碎机：可将样品粉碎并通过 250 μm ± 9.9 μm （65 目）筛。

7.5 滤膜：有机相，0.45 μm 。

8 分析步骤

8.1 试样制备

除去可见杂质后，取有代表性试样 50 g ~ 100 g，用药材粉碎机粉碎后，过 65 目筛，混匀装于密闭容器，阴凉干燥处保存。

8.2 供试品溶液的制备

称取试样 0.25 g（精确至 0.000 1 g）于 150 mL 具塞锥形瓶中，准确加入 20 mL 甲醇溶液（5.2.1），密塞，称定重量，超声 1 h，放冷，再称定重量，用甲醇溶液（5.2.1）补足减失的重量，摇匀，滤纸过滤，精密移取滤液 1.00 mL，置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶液（5.2.1）定容至刻度，摇匀，0.45 μm 滤膜过滤，待测。

8.3 测定

8.3.1 液相色谱参考条件

8.3.1.1 色谱柱：C18（柱长 250 mm，柱内径 4.6 mm，填料粒径 5.0 μm ），或相当者。

8.3.1.2 流动相：A 相为磷酸溶液（5.2.2）；B 相为甲醇（5.1.1）。流动相梯度洗脱条件见表 1。

8.3.1.3 流速：1.0 mL/min。

8.3.1.4 柱温：30 °C。

8.3.1.5 进样量：10 μL 。

8.3.1.6 检测波长：270 nm。

表 1 流动相及其梯度条件（ V_A+V_B ）

时间 (min)	V_A	V_B
0.00	95	5
15.0	90	10
25.0	72	28
45.0	70	30
65.0	50	50
65.1	5	95
70.0	5	95
70.1	95	5
80.0	95	5

8.3.2 标准曲线的制作

将标准系列溶液由低浓度到高浓度依次注入液相色谱仪中，测定相应的峰面积，分别以没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸和鞣花酸的峰面积为纵坐标，以其浓度为横坐标绘制标准曲线。液相色谱图见附录 A。

8.3.3 定性

以保留时间定性，被测试样中待测组分色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，相对误差应在 $\pm 2.5\%$ 之内。

8.3.4 定量

分别以没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸和鞣花酸的质量浓度为横坐标、色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，其相关系数应不低于 0.99。待测样液中没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸和鞣花酸的质量浓度应在标准曲线的线性范围内，超过线性范围则应稀释上机溶液后重新测定。

8.4 空白试验

不称取试样，按样品供试品溶液制备步骤操作，应不含有干扰待测组分的物质。

9 结果计算

试样中没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸和鞣花酸的含量以质量分数 ω 计，数值以克每百克（g/100g）表示，按公式（1）计算，测定结果以平行测定的算术平均值表示，保留 3 位有效数字：

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m \times 10000} \times n \quad \text{.....(1)}$$

式中：

ω ——试样中被测组分的含量，单位为克每百克（g/100g）；

ρ ——由标准曲线得到的试样溶液中待测组分的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——试样溶液体积，单位为毫升（mL）；

n ——稀释倍数；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

10 000 ——换算系数。

9 精密度

在重复性条件下，两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值的 10%。

10 检出限和定量限

本文件方法中没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸和鞣花酸的检出限为 0.003 g/100g,定量限为 0.010 g/100g。

附录 A

(资料性)

没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸标准溶液液相色谱图

没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸标准溶液液相色谱图见图 A.1。

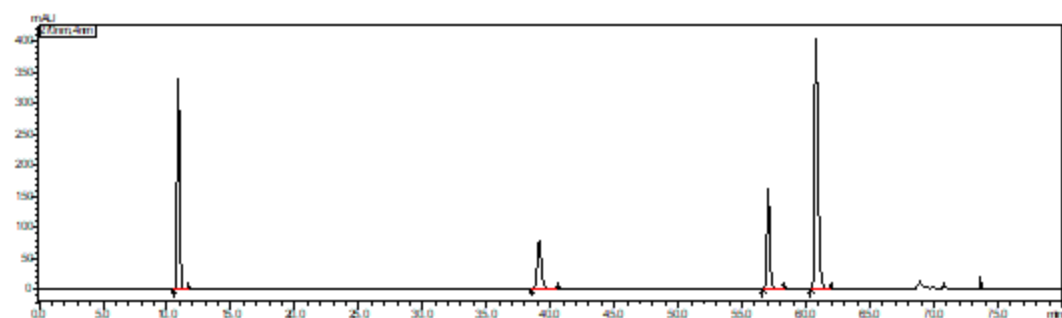


图 A.1 没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、鞣花酸混合标准溶液 (100 $\mu\text{g/mL}$) 的液相色谱图