

# 植物提取物 竹叶提取物

## 团体标准编制说明

### 一、工作简况

本标准的制定工作由中国医药保健品进出口商会提出，由中国医药保健品进出口商会归口，中国医药保健品进出口商会标准化技术委员会负责解释。本标准由劲牌持正堂药业有限公司负责起草、湖南金叶原浆酒业有限公司、浙江圣氏生物科技有限公司参与起草。本标准主要起草人为张继斌、陈志元、张帆、王玉、黄林恋、戴明泽、杨豪、高亮、章兴。

### 二、标准制订的目的及意义

竹叶提取物（Bamboo Leaf extract）是以禾本科刚竹属毛环竹 *Phyllostachys meyeri* McClure 的干燥叶为原料，经过水提取、离心、树脂纯化、浓缩、干燥而制成的提取物。竹叶提取物成分比较多，主要包括黄酮类、内酯类和酚酸类化合物，其中，黄酮类化合物主要是碳苷黄酮，四种代表化合物为：荭草苷、异荭草苷、牡荆苷和异牡荆苷，内酯类化合物主要是羟基香豆素及其糖苷，酚酸类化合物主要是肉桂酸的衍生物，包括绿原酸、咖啡酸和阿魏酸等。现代药理研究表明竹叶提取物可以有效地降低血压、降低血脂，对心脑血管疾病有预防作用，同时可以在一定程度上增强人体的免疫力，还能够起到抗氧化的作用，另外竹叶提取物对于颜面部位的色素沉着也有改善功效。

目前国内外暂无竹叶提取物的相关技术标准，多数植物提取物企业执行的都是本企业的企业标准。因此，竹叶提取物由于其质量指标没有统一标准可遵循，导致竹叶提取物质量千差万别，影响出口声誉。因此，建立竹叶提取物团体标准，进一步规范国内竹叶提取物生产、销售具有重要的现实意义。

### 三、国内外有关法律法规和其他标准的关系

竹叶提取物标准目前国内建立有相关技术标准，如：浙江制造团体标准《竹叶黄酮》（T/ZZB 1094-2019），但没有被《中国药典》2020 版、《欧洲药典》8.0 版、《美国药典》39 版收载。浙江制造团体标准《竹叶黄酮》中制定的含量控制指标为总黄酮（以芦丁计） $\geq 24.0\%$ ，异荭草苷 $\geq 2.0\%$ 。异荭草苷是一种木犀草素糖苷类天然黄酮物质，广泛存在于荭草、玉米、黑米、荞麦、竹笋、山楂、黄瓜等多种食物中，该标准以异荭草苷单一成分作为控制指标，该指标不存在专属性，易出现掺伪现象。竹叶提取物主要成分为黄酮类成分，其中代表化合物为荭草苷、异荭草苷、牡荆苷和异牡荆苷，本标准选取 4 种含量较高的代表性黄酮成分作为控制指标，能更加全面的评价和控制提取物的质量。

### 四、标准的制订与起草原则

本标准遵循中国医药保健品进出口商会提供的相关规则编写，参照《欧洲药典》8.0 版、《中国药

典》2020 版、《美国药典》39 版和相关国家标准以及产品特性、市场要求制定本标准。

表1 竹叶提取物技术指标依据及检验方法依据

| 项 目                   | 指 标                              | 指标制定依据                      | 检验方法依据                                      |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------|
| 性状                    | 本品为黄色至棕黄色粉末；具有竹叶特有的气味，味微苦，无可见异物。 | 产品特性                        | 取本品嗅其气味和尝其滋味；另取试样适量置于白色瓷盘中观察其色泽、外观，并检查有无异物。 |
| 鉴别                    | 供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。 | 产品特性                        | 通则 Y03—薄层色谱法                                |
| 总黄酮（以芦丁计）/%           | $\geq 24.0$                      | 市场要求                        | 通则 Y01—紫外-可见分光光度法                           |
| 荭草苷、异荭草苷、牡荆苷和异牡荆苷之和/% | $\geq 3.0$                       | 市场要求                        | 通则 Y04—高效液相色谱法                              |
| 粒度(80 目筛)/%           | $\geq 90.0$                      | 市场要求                        | 通则 Y07—粒度和粒度分布测定法（第二法 筛分法）                  |
| 水分/%                  | $\leq 5.0$                       | 市场要求                        | 通则 G01—水分的测定（第一法 直接干燥法）                     |
| 灰分/%                  | $\leq 5.0$                       | 产品特性                        | 通则 G02—灰分的测定（第一法 总灰分的测定）                    |
| 铅（Pb）/（mg/kg）         | $\leq 2.0$                       | GB16740-2014                | 通则Y12—铅、镉、砷、汞、铜测定法                          |
| 镉（Cd）/（mg/kg）         | $\leq 0.3$                       | WM-T2-2004 药用植物及制剂外经贸绿色行业标准 |                                             |
| 砷（As）/（mg/kg）         | $\leq 1.0$                       | GB16740-2014                |                                             |
| 汞（Hg）/（mg/kg）         | $\leq 0.1$                       | （EC）No. 629/2008            |                                             |
| 残留溶剂（乙醇）/（mg/kg）      | $\leq 2000$                      | 产品特性                        | 通则 Y10—残留溶剂测定法                              |
| 菌落总数/CFU/g            | $\leq 1000$                      | 《中国药典》2020 版                | 通则 G09—菌落总数测定                               |
| 霉菌和酵母/CFU/g           | $\leq 100$                       | 《中国药典》2020 版                | 通则 G14—霉菌和酵母计数                              |
| 大肠埃希氏菌                | 不得检出                             | 《中国药典》2020 版                | 通则 G10—大肠埃希氏菌计数                             |
| 沙门氏菌                  | 不得检出                             | 《中国药典》2020 版                | 通则 G12—沙门氏菌检验                               |

|  |  |   |  |
|--|--|---|--|
|  |  | 版 |  |
|--|--|---|--|

五、确定各项技术内容

样品来源：劲牌持正堂药业有限公司（以下简称劲牌持正堂）、湖南金叶原浆酒业有限公司（以下简称湖南金叶）、浙江圣氏生物科技有限公司（以下简称浙江圣氏）、陕西斯诺特生物科技有限公司（以下简称陕西斯诺特）、湖南南陌生物科技有限公司（以下简称湖南南陌）。对照品芦丁、荭草苷、异荭草苷、牡荆苷从中国食品药品检定研究院购买，异牡荆苷从上海诗丹德标准技术服务有限公司购买。

表 2 竹叶提取物样品来源表

| 样品提供单位 | 样品批号                                                  |
|--------|-------------------------------------------------------|
| 劲牌持正堂  | 20230501、20230801、20230901、20230902、20231101、20240101 |
| 湖南金叶   | 20230201、20230301、20230302、20230701                   |
| 浙江圣氏   | 20230502、20231001、20231101、20231201、20240220          |
| 陕西斯诺特  | 20240701、20240702                                     |
| 湖南南陌   | 20240703                                              |

1 工艺要求

本品的原料为禾本科刚竹属毛环竹 *Phyllostachys meyeri* 的干燥叶。其制法为：经水提取、离心、树脂纯化、浓缩、干燥制成的竹叶提取物。

2 性状

取本品嗅其气味、尝其滋味，另取试样适量置于白色瓷盘中观察其色泽、外观，并检查有无异物。

表 3 竹叶提取物性状检验结果

| 样品来源  | 批 号      | 性 状                           |
|-------|----------|-------------------------------|
| 劲牌持正堂 | 20230501 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 劲牌持正堂 | 20230801 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 劲牌持正堂 | 20230901 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 劲牌持正堂 | 20230902 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 劲牌持正堂 | 20231101 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 劲牌持正堂 | 20240101 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 湖南金叶  | 20230201 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 湖南金叶  | 20230301 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 湖南金叶  | 20230302 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |

|       |          |                               |
|-------|----------|-------------------------------|
| 湖南金叶  | 20230701 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 浙江圣氏  | 20230502 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 浙江圣氏  | 20231001 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 浙江圣氏  | 20231101 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 浙江圣氏  | 20231201 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 浙江圣氏  | 20240220 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 陕西斯诺特 | 20240701 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 陕西斯诺特 | 20240702 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |
| 湖南南陌  | 20240703 | 棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。 |

观察结果为：18 批竹叶提取物为棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。根据观察结果，本标准规定竹叶提取物的性状要求描述为：本品为黄色至棕黄色粉末，具有竹叶特有的气味，味微苦，均匀，无可见异物。

### 3 理化指标

#### 3.1 鉴别（Y03-薄层色谱法）

##### 3.1.1 仪器和设备

电子天平（万分之一）；

超声波清洗机；

电热恒温水浴锅；

##### 3.1.2 试剂和材料

乙酸乙酯、丁酮、甲酸、乙醇、三氯化铝：分析纯；

荭草苷、异荭草苷、牡荆苷对照品：购自中国食品药品检定研究院。

异牡荆苷对照品：购自上海诗丹德标准技术服务有限公司。

##### 3.1.3 色谱系统

a) 薄层板：硅胶G薄层板。

b) 展开剂：乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水（12：6：1：1.5，v/v）。

##### 3.1.4 溶液制备

###### 3.1.4.1 对照品溶液

取荭草苷、异荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷对照品，分别加入乙醇制成每1mL含0.15mg的溶液，即得。

###### 3.1.4.2 供试品溶液

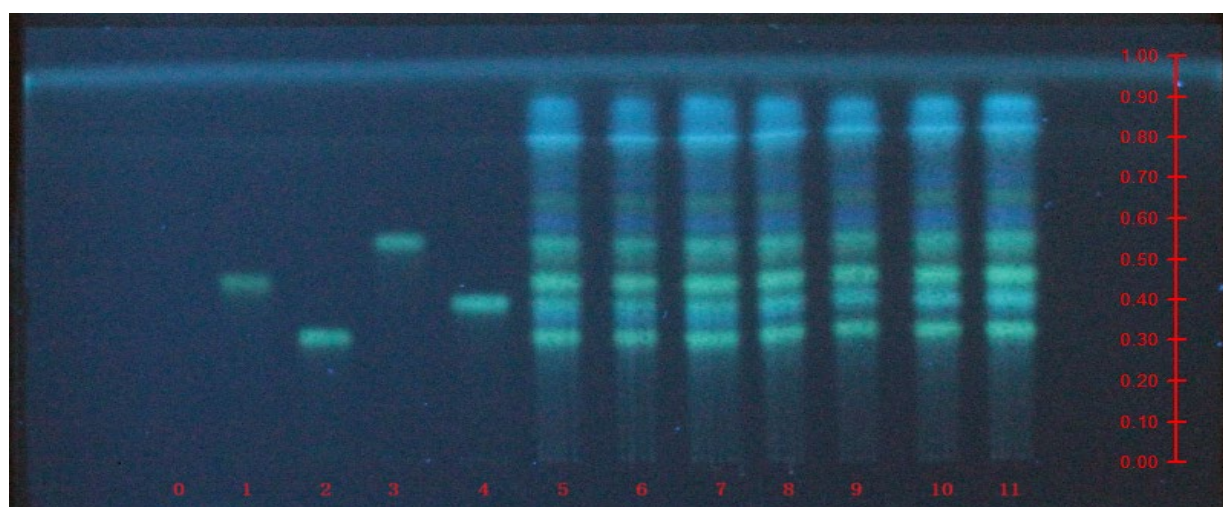
取竹叶提取物粉末0.25g，加纯净水10mL，超声（250W，53kHz）使溶解，加入乙酸乙酯振摇提取两次（30mL、20mL），合并乙酸乙酯提取液，蒸干，残渣加乙醇1mL使溶解，即得。

### 3.1.5 操作步骤

分别吸取对照品溶液和供试品溶液各1 $\mu$ L，分别点于同一硅胶G薄层板上，以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水（12:6:1:1.5）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以1%三氯化铝乙醇溶液，热风吹干，置紫外光灯（365nm）下检视。

### 3.1.6 测定

供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。结果见图1-图3。



0: 空白;

1: 对照品: 荭草苷;

2: 对照品: 异荭草苷。

3: 对照品: 牡荆苷。

4: 对照品: 异牡荆苷。

5: 竹叶提取物, 批号: 20230501, 劲牌持正堂。

6: 竹叶提取物, 批号: 20230801, 劲牌持正堂。

7: 竹叶提取物, 批号: 20230901, 劲牌持正堂。

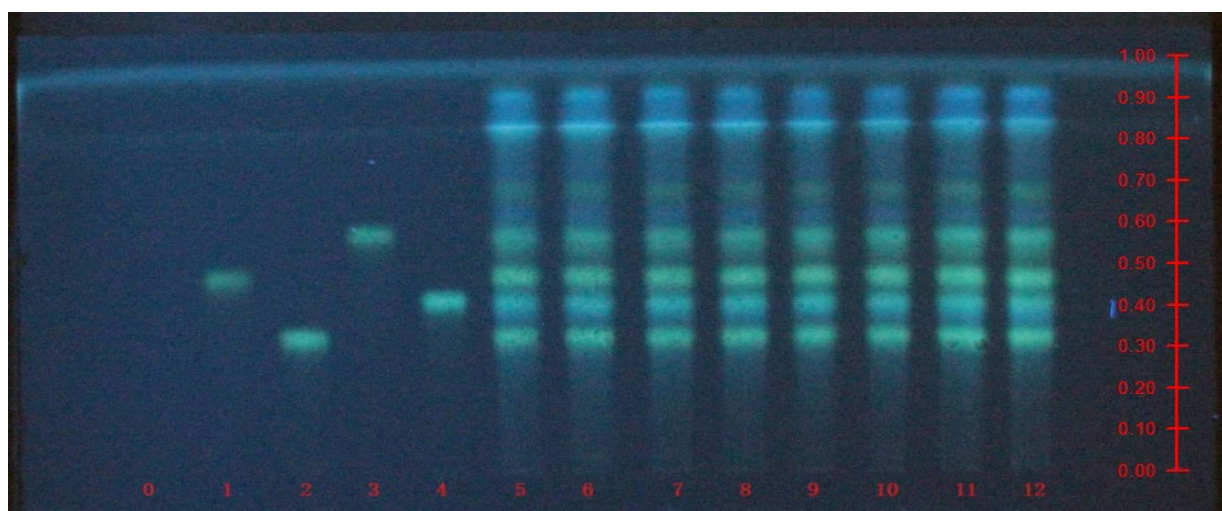
8: 竹叶提取物, 批号: 20230902, 劲牌持正堂。

9: 竹叶提取物, 批号: 20231101, 劲牌持正堂。

10: 竹叶提取物, 批号: 20240101, 劲牌持正堂。

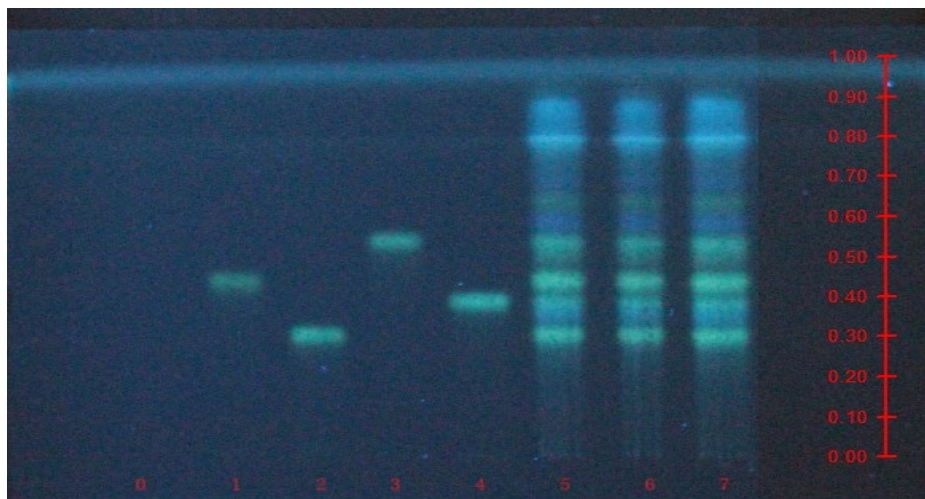
11: 竹叶提取物, 批号: 20230201, 湖南金叶。

图1 竹叶提取物薄层色谱图



- 0: 空白;
- 1: 对照品: 荳蔻苷;
- 2: 对照品: 异荳蔻苷。
- 3: 对照品: 牡荆苷。
- 4: 对照品: 异牡荆苷。
- 5: 竹叶提取物, 批号: 20230301, 湖南金叶。
- 6: 竹叶提取物, 批号: 20230302, 湖南金叶。
- 7: 竹叶提取物, 批号: 20230701, 湖南金叶。
- 8: 竹叶提取物, 批号: 20230502, 浙江圣氏。
- 9: 竹叶提取物, 批号: 20231001, 浙江圣氏。
- 10: 竹叶提取物, 批号: 20231101, 浙江圣氏。
- 11: 竹叶提取物, 批号: 20231201, 浙江圣氏。
- 12: 竹叶提取物, 批号: 20240220, 浙江圣氏。

图 2 竹叶提取物薄层色谱图



- 0: 空白;
- 1: 对照品: 荇草苷;
- 2: 对照品: 异荇草苷。
- 3: 对照品: 牡荆苷。
- 4: 对照品: 异牡荆苷。
- 5: 竹叶提取物, 批号: 20240701, 陕西斯诺特。
- 6: 竹叶提取物, 批号: 20240702, 陕西斯诺特。
- 7: 竹叶提取物, 批号: 20240703, 湖南南陌。

图 3 竹叶提取物薄层色谱图

由薄层色谱图 1-3 可见, 竹叶提取物供试品溶液色谱图中在与对照品色谱图相应的位置上显相同颜色的荧光斑点。因此, 将供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点订入本标准。

### 3.2 总黄酮含量测定 (通则 Y01-紫外-可见分光光度法)

#### 3.2.1 仪器和设备

紫外可见分光光度计

电子天平 (十万分之一)

超声清洗仪

电热恒温水浴锅

#### 3.2.2 试剂和材料

芦丁对照品: 中国食品药品检定研究院生产。

无水乙醇: 分析纯。

亚硝酸钠：分析纯。

硝酸铝：分析纯。

氢氧化钠：分析纯。

纯净水。

### 3.2.3 试剂配制

5%亚硝酸钠溶液：称取5g亚硝酸钠，加纯净水溶解并定容至100mL。

10%硝酸铝溶液：称取硝酸铝10g，加纯净水溶解并定容至100mL。

4%氢氧化钠溶液：称取氢氧化钠40g，加纯净水溶解并定容至1000mL。

### 3.2.4 溶液制备

#### 3.2.4.1 对照品溶液制备

取芦丁对照品 25mg(精确到 0.01mg)，精密称定，置 50mL 量瓶中，加入乙醇超声（250W，53kHz）溶解并定容至刻度，摇匀，即得。

#### 3.2.4.2 供试品溶液制备

取竹叶提取物约 100mg，精密称定，置 50mL 量瓶中，加入 40%乙醇 40mL，超声（250W，53kHz）溶解 10min，超声过程中注意摇动，使其完全溶解，冷却后 40%乙醇定容，摇匀，即得。

#### 3.2.4.3 标准曲线的制备

精密吸取芦丁对照品溶液0.00mL、0.50mL、1.00mL、1.50mL、2.00mL、2.50mL、3.00mL、3.50mL分别置于25mL容量瓶中，各加水至6.0mL，加5%亚硝酸钠溶液1mL，摇匀，放置6min；再加10%硝酸铝溶液1mL，摇匀，放置6min；加4%氢氧化钠试液10mL，再加水至刻度，摇匀，放置15min。以相应试剂为空白，照紫外-可见分光光度法，在500nm的波长处测定吸光度，以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

#### 3.2.4.4 测定方法

精密量取供试品溶液2mL，置25mL容量瓶中，按标准曲线制备项下方法，自“加水至6.0mL”起，依法测定吸光度，从标准曲线上读出供试品溶液所含芦丁的浓度（mg/L），计算，即得。

### 3.2.5 结果计算

供试品中总黄酮含量以质量分数 $w$ 计，数值以%表示，按公式（A.1）计算。

$$w = \frac{C \times V}{m \times (1 - d) \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

$w$  ——供试品中总黄酮（以芦丁计）的质量分数，%；



C ——由标准曲线读得供试品溶液所含芦丁的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；  
V ——供试品溶液的稀释体积，单位为毫升（mL）；  
m ——供试品的称样量，单位为毫克（mg）；  
d ——供试品的水分，%；  
1000——单位转换值。

3.2.6 系统适应性试验

取 3.2.4.1 项下制备的对照品溶液，按 3.2.4.3 方法显色后，于 500nm 处比色测定，连续测定 6 次吸光度，计算 RSD 值为 0.12%。试验结果见表 4。

表 4 系统适应性试验结果

| 序号  | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | RSD (%) |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| 吸光度 | 0.5776 | 0.5776 | 0.5774 | 0.5765 | 0.5764 | 0.5761 | 0.12    |

3.2.7 精密度试验

3.2.7.1 重复性试验

精密称取竹叶提取物（批号：20231101）100mg，按照 3.2.4.2 供试品溶液制备方法各制备 6 份供试品溶液作为重复性试验样品，按 3.2.4.4 方法显色后，于 500nm 处比色测定，由标准曲线读出供试品溶液所含芦丁的浓度，计算竹叶提取物中总黄酮（以芦丁计）平均含量为 25.55%，重复性试验的 RSD 值为 1.12%。试验结果见表 5。

表 5 重复性试验结果

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 检测浓度<br>(mg/L) | 总黄酮含量<br>(%) | 平均含量<br>(%) | RSD<br>(%) |
|----|-------------|----------------|--------------|-------------|------------|
| 1  | 102.90      | 42.6097        | 25.88        | 25.55       | 1.12       |
| 2  | 101.82      | 41.6105        | 25.54        |             |            |
| 3  | 102.25      | 41.4166        | 25.32        |             |            |
| 4  | 106.77      | 43.1391        | 25.25        |             |            |
| 5  | 105.66      | 42.9452        | 25.40        |             |            |
| 6  | 107.32      | 44.4962        | 25.91        |             |            |

3.2.7.2 中间精密度试验

取竹叶提取物（批号：20231101）100mg，由不同人员按照 3.2.4.2 制备供试品溶液，按 3.2.4.4 方法显色，在不同日期用不同仪器（北京普析 T9 型紫外可见分光光度计和北京普析 TU1901 型）测定 6 组平行样，总黄酮（以芦丁计）平均含量为 25.90%，RSD 值为 1.27%。试验结果见表 6。

表 6 中间精密度试验结果

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 检测浓度<br>(mg/L) | 总黄酮含量<br>(%) | 平均含量<br>(%) | RSD<br>(%) |
|----|-------------|----------------|--------------|-------------|------------|
| 1  | 109.77      | 45.2121        | 25.74        | 25.90       | 1.27       |
| 2  | 104.24      | 43.8997        | 26.32        |             |            |
| 3  | 111.61      | 46.1218        | 25.83        |             |            |
| 4  | 113.25      | 46.6736        | 25.76        |             |            |
| 5  | 118.88      | 48.6049        | 25.55        |             |            |
| 6  | 116.88      | 48.9330        | 26.17        |             |            |

### 3.2.8 线性关系试验

精密称取芦丁对照品 216mg 置 50mL 容量瓶，按 3.2.4.1 项下制备方法配制对照品溶液，精密量取对照品溶液 0.50mL、1.00mL、1.50mL、2.00mL、2.50mL、3.00mL、3.50mL 于 25mL 容量瓶中，加混合碱溶液至刻度，混匀，于暗处放置 30 分钟。以混合碱溶液为空白，在 500nm 波长处，分别测定吸光度。试验结果见表 7。

表 7 总黄酮（以芦丁计）标准曲线试验结果

| 对照品浓度(mg/L) | 8.6340 | 17.2680 | 25.9020 | 34.5350 | 43.1690 | 51.8030 | 60.4370 |
|-------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 吸光度         | 0.1141 | 0.2167  | 0.3285  | 0.4418  | 0.5683  | 0.6900  | 0.8113  |

以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。曲线方程为  $A=0.01341 \times C - 0.00893$ ,  $R=0.9995$ ，结果表明竹叶提取物中总黄酮（以芦丁计）的浓度在 0.0000-60.4370mg/L 范围内呈良好线性关系，标准曲线见图 4。

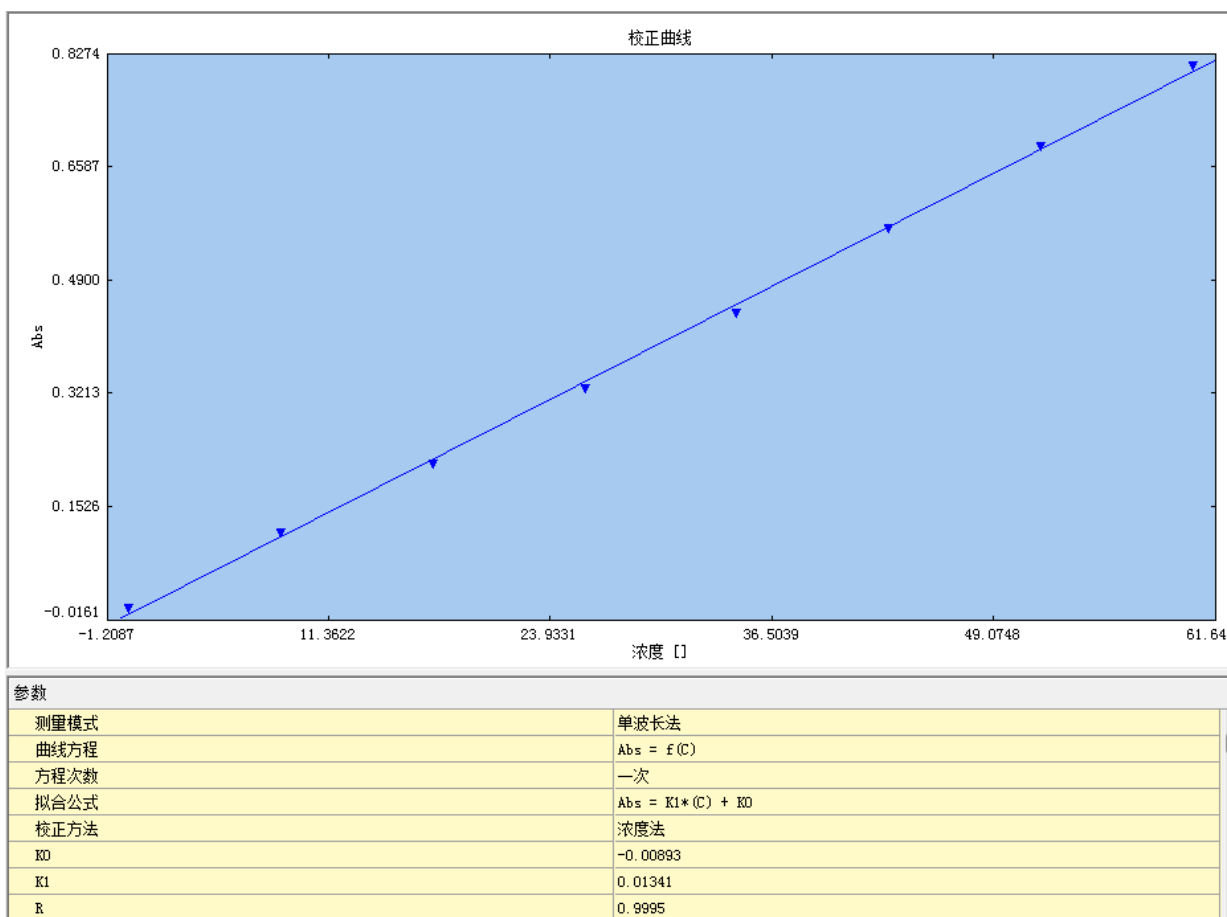


图 4 芦丁标准曲线

### 3.2.9 稳定性试验

取竹叶提取物（批号 20231101），按照 3.2.4.2 制备供试品溶液，按 3.2.4.4 方法显色完成后，分别于 0、5、10、15、20、25 分钟依次测定吸光度，结果供试品中吸光度的 RSD 值为 0.46%（n=6），表明供试品显色后在 25 分钟内稳定。试验结果见表 8。

表 8 稳定性试验结果

| 时间（分钟） | 0      | 5      | 10     | 15     | 20     | 25     | RSD(%,<br>n=6) |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|
| 吸光度    | 0.5670 | 0.5666 | 0.5636 | 0.5608 | 0.5582 | 0.5557 | 0.46           |

### 3.2.10 准确度试验

取竹叶提取物（批号 20231101，总黄酮含量为 25.55%），分别精密称定约 50mg 于 6 个 50mL 容量瓶中。另精密称定芦丁对照品（含量 91.6%）189.03mg 于 25mL 容量瓶中，加乙醇超声溶解并定容（此对照品溶液含芦丁 6.9260mg/mL），分别精密量取该对照品溶液 2mL（以芦丁计 13.8521mg），加入 6 个含竹叶提取物的 50mL 容量瓶中，按照 3.2.4.2 供试品溶液制备方法制备得到供回收率测定用供试品溶液，按 3.2.4.4 方法显色完成后，于 500nm 处比色测定，由标准曲线读出供试品溶液所含

芦丁的浓度，计算芦丁平均回收率为 98.40%（95%~102%），加标回收试验的 RSD 值为 0.59%，符合要求。试验结果见表 9。

表 9 准确度试验结果

| 称样量<br>(mg) | 样品中总黄<br>酮量(mg) | 加对照品量<br>(mg) | 测得总黄酮量<br>(mg) | 回收率<br>(%) | 平均回收率<br>(%) | RSD<br>(%, n=6) |
|-------------|-----------------|---------------|----------------|------------|--------------|-----------------|
| 53.39       | 13.6411         | 13.8521       | 27.3348        | 98.86      | 98.40        | 0.59            |
| 51.48       | 13.1531         | 13.8521       | 26.8268        | 98.71      |              |                 |
| 49.19       | 12.5680         | 13.8521       | 26.2396        | 98.70      |              |                 |
| 52.30       | 13.3627         | 13.8521       | 26.9014        | 97.74      |              |                 |
| 54.01       | 13.7996         | 13.8521       | 27.3161        | 97.58      |              |                 |
| 53.02       | 13.5466         | 13.8521       | 27.2323        | 98.80      |              |                 |

样品中总黄酮的量=称样量×25.55%

对照品的加入量=189.03mg×91.6%÷25mL×2.0mL=13.8521mg

回收率计算公式：

$$\text{回收率} = \frac{\text{测得量(mg)} - \text{样品中总黄酮量(mg)}}{\text{对照品加入量(mg)}} \times 100\%$$

3.2.11 提取方式对含量测定的影响

取竹叶提取物（批号 20231101，总黄酮含量为 25.55%）6 份，各约 100mg 左右，3 份置 50mL 容量瓶中，加入 40%乙醇 50mL，分别超声(250W，53KHZ)提取 10 分钟、20 分钟、30 分钟后定容，检测含量；3 份置 100mL 带盖锥形瓶中，90℃热回流提取 10 分钟、20 分钟、30 分钟后定容，检测含量；试验结果见表 10。

表 10 提取方式对含量测定的影响

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 提取方式      | 总黄酮含量<br>(%) | 平均含量<br>(%) | RSD<br>(%, n=6) |
|----|-------------|-----------|--------------|-------------|-----------------|
| 1  | 103.94      | 热回流 10min | 25.80        | 25.96       | 1.38            |
| 2  | 113.40      | 热回流 20min | 25.45        |             |                 |
| 3  | 100.20      | 热回流 30min | 26.41        |             |                 |
| 4  | 104.24      | 超声 10min  | 26.32        |             |                 |
| 5  | 106.94      | 超声 20min  | 25.81        |             |                 |
| 6  | 121.02      | 超声 30min  | 26.00        |             |                 |

表 10 结果显示，热回流、超声时间在 10 分钟到 30 分钟之间，检测结果差异不大。因此，本标准方法选择超声、时间为 10 分钟。

3.2.12 不同溶剂浓度对含量测定的影响

取竹叶提取物（批号 20231101，总黄酮含量为 25.55%）6 份，各约 100mg 左右，分别用 20%乙醇、30%乙醇、40%乙醇、50%乙醇、60%乙醇、80%乙醇进行溶解，观察提取物的溶解情况并检测含量，试验结果见表 11。

表 11 不同溶剂浓度对含量测定的影响

| 溶剂浓度         | 20%   | 30%   | 40%   | 50%   | 60% | 80%         |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-----|-------------|
| 溶解情况         | 澄清    | 澄清    | 澄清    | 轻微浑浊  | 浑浊  | 部分不溶，<br>浑浊 |
| 总黄酮含量<br>(%) | 25.81 | 25.07 | 26.20 | 25.84 | /   | /           |

表 11 结果显示，不同的溶剂浓度提取物的溶解情况及检测结果有差异，其中 40%乙醇溶解情况好，总黄酮检测结果最高，故本标准方法选用 40%乙醇溶解样品。

3.2.13 检测波长的选择

取 3.2.4.1 制备的对照品溶液适量，按照 3.2.4.4 方法显色后，在 300~800nm 波长进行光谱扫描，发现光谱图在 500~510nm 处有最大吸收，参照《中华人民共和国药典》一部中总黄酮（以芦丁计）含量检测波长为 500nm，故测定波长选定为 500nm。

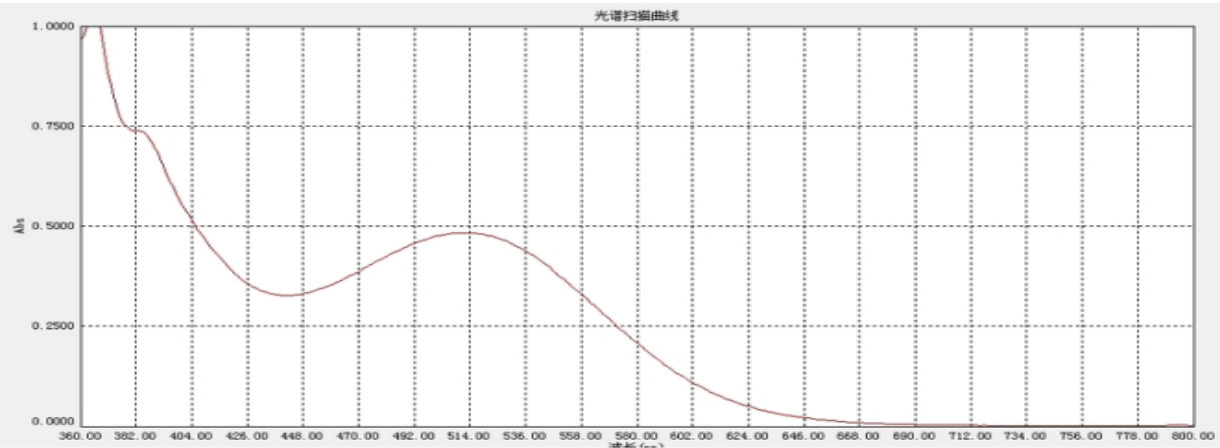


图 5 光谱扫描曲线

3.2.14 样品测定

取样品按 3.2.4.2 供试品溶液制备方法制备供试品溶液，按 3.2.4.4 方法显色后，于 500nm 处比色测定，由标准曲线读出供试品溶液所含芦丁的浓度，按 3.2.5 公式计算样品总黄酮（以芦丁计）含量，即得。竹叶提取物样品总黄酮含量测定结果见表 12。

表 12 竹叶提取物总黄酮含量测定结果

| 样品来源  | 批号       | 含量 (%) |
|-------|----------|--------|
| 劲牌持正堂 | 20230501 | 27.13  |
| 劲牌持正堂 | 20230801 | 26.43  |
| 劲牌持正堂 | 20230901 | 27.90  |
| 劲牌持正堂 | 20230902 | 24.30  |
| 劲牌持正堂 | 20231101 | 25.78  |
| 劲牌持正堂 | 20240101 | 27.46  |
| 湖南金叶  | 20230201 | 27.60  |
| 湖南金叶  | 20230301 | 27.67  |
| 湖南金叶  | 20230302 | 27.76  |
| 湖南金叶  | 20230701 | 27.37  |
| 浙江圣氏  | 20230502 | 27.64  |
| 浙江圣氏  | 20231001 | 27.31  |
| 浙江圣氏  | 20231101 | 27.03  |
| 浙江圣氏  | 20231201 | 28.21  |
| 浙江圣氏  | 20240220 | 26.22  |
| 陕西斯诺特 | 20240701 | 24.67  |
| 陕西斯诺特 | 20240702 | 24.81  |
| 湖南南陌  | 20240703 | 25.02  |

上述方法学验证表明，竹叶提取物中总黄酮含量的紫外分光光度法其系统适应性、精密度、线性关系、稳定性、准确度等均符合要求，该方法稳定、可靠、可行，可以作为竹叶提取物中总黄酮的含量测定方法，订入本标准。

表 12 结果显示，18 批竹叶提取物中总黄酮含量按干燥品计算，有 3 批介于临界值，其余 15 批与规格含量相符。因此，将本品含总黄酮（以芦丁计）按干燥品计算不少于 24.0%订入本标准。

### 3.3 荭草苷、异荭草苷、牡荆苷和异牡荆苷含量测定（通则 Y04-高效液相色谱法）

#### 3.3.1 仪器和设备

高效液相色谱仪（附紫外检测器）

电子天平（十万分之一）

超声波清洗器

### 3.3.2 试剂和材料

乙腈、磷酸：色谱纯

甲醇、乙醇：分析纯

纯化水

### 3.3.3 参考色谱条件和系统适用性

a) 色谱柱：十八烷基键合硅胶柱（250mm\*4.6mm，5 μm）。

b) 流动相：乙腈-0.5%磷酸=14：86。

c) 流速：1.0 mL/min。

d) 柱温：30℃。

e) 检测波长：360nm。

f) 理论塔板数按异荭草苷峰计算应不低于 5000。

### 3.3.4 溶剂制备

#### 3.3.4.1 对照品溶液制备

分别精密称取异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷 12mg、6mg、3mg、3mg 于 50mL 的容量瓶中，分别加入 50%甲醇溶液约 40mL，超声（250W，53KHz）溶解 10min 后，放置至室温，用 50%甲醇溶解定容至刻度，摇匀，即得。

#### 3.3.4.2 供试品溶液制备

精密称定供试品约 100mg 于 10mL 容量瓶中，加入 50%乙醇约 8mL，超声（250W，53KHz）溶解 10min 后，放置至室温，用 50%乙醇溶解定容至刻度，摇匀后，滤过，即得。

### 3.3.5 测定方法

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL，注入液相色谱仪进行测定，根据所得对照品溶液和供试品溶液色谱图中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷峰面积计算供试品中待测组分异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量。

### 3.3.6 结果计算

供试品中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量以质量分数  $w$  计，数值以%表示，按公式（A.2）计算：

$$w = \frac{C_0 \times A_1 \times V}{m \times A_0 \times (1 - d) \times 1000} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中： $w$ ——供试品中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷的质量分数，%；

$C_0$ ——对照品溶液中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

$A_I$ ——供试品溶液中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷的峰面积；

$A_0$ ——对照品溶液中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷的峰面积；

$V$ ——供试品溶液的稀释体积，单位为毫升（mL）；

$m$ ——供试品的称样量，单位为毫克（mg）；

$d$ ——供试品的水分，%；

1000——单位转换值。

### 3.3.7 系统适应性试验

取 3.3.4.1 项下制备的异荭草苷（浓度 272.0736mg/L）、荭草苷（浓度 117.1296mg/L）、牡荆苷（浓度 47.0436mg/L）、异牡荆苷（浓度 51.0538mg/L），重复进样 6 次，分别计算峰面积及保留时间的 RSD 值，峰面积和保留时间的 RSD 值应不高于 2.0%。拖尾因子以异荭草苷计应不低于 0.95，不高于 1.05。理论塔板数以异荭草苷计应不低于 5000。试验结果见表 13。

表 13 系统适应性试验结果

| 进样次序      | 1       | 2       | 3       | 4       | 5       | 6       | RSD<br>(%,<br>n=6) |
|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------------------|
| 异荭草苷保留时间  | 21.319  | 21.330  | 21.268  | 21.432  | 21.216  | 21.309  | 0.34               |
| 荭草苷保留时间   | 23.426  | 23.777  | 23.701  | 23.514  | 23.368  | 23.510  | 0.67               |
| 牡荆苷保留时间   | 34.203  | 34.412  | 34.698  | 34.516  | 34.594  | 34.776  | 0.60               |
| 异牡荆苷保留时间  | 37.891  | 37.698  | 37.564  | 37.802  | 37.813  | 37.787  | 0.30               |
| 异荭草苷峰面积   | 7119.71 | 7101.42 | 7123.47 | 7108.21 | 7058.93 | 7092.16 | 0.33               |
| 荭草苷峰面积    | 2847.17 | 2851.02 | 2859.67 | 2871.10 | 2840.64 | 2840.71 | 0.42               |
| 牡荆苷峰面积    | 698.86  | 689.14  | 691.03  | 688.77  | 693.17  | 700.02  | 0.70               |
| 异牡荆苷峰面积   | 1091.45 | 1087.12 | 1111.41 | 1108.88 | 1134.34 | 1078.63 | 1.84               |
| 异荭草苷拖尾因子  | 1.04    | 1.03    | 1.01    | 1.01    | 1.02    | 1.04    | 1.34               |
| 异荭草苷理论塔板数 | 10972   | 9190    | 11084   | 9993    | 10786   | 9928    | —                  |

### 3.3.8 定量限、检测限试验

参考 GBT27404-2008 附录 F：检测方法确认的技术要求中 F.4 测定低限的相关要求，按照已确定的色谱分析条件进行测定，对竹叶提取物中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷定量限和检出限的测定试验如下。



3.3.8.1 异荳蔻苷

精密称取异荳蔻苷对照品（94.0%）12.06mg 至 25mL 容量瓶，加 50%甲醇溶解定容，摇匀，得到浓度为 453.456mg/L 的异荳蔻苷对照品母液。精密量取异荳蔻苷对照品母液 1mL 至 100mL 容量瓶中，加 50%甲醇溶解定容，得到浓度为 4.5346mg/L 的异荳蔻苷溶液。再将浓度为 4.5346mg/L 的异荳蔻苷溶液稀释 5 倍，得到浓度为 0.9069mg/L 的异荳蔻苷溶液。

将浓度为 0.9069mg/L 的异荳蔻苷标准溶液进样 20 次，计算异荳蔻苷色谱峰高与基线噪音的比值，计算结果如下。

表 14 浓度为 0.9069mg/L 的异荳蔻苷标准溶液信噪比情况

| 序号 | 信噪比  | 序号 | 信噪比  |
|----|------|----|------|
| 1  | 12.8 | 11 | 9.9  |
| 2  | 11.3 | 12 | 10.8 |
| 3  | 11.9 | 13 | 11.7 |
| 4  | 11.4 | 14 | 11.4 |
| 5  | 11.0 | 15 | 11.2 |
| 6  | 11.2 | 16 | 11.8 |
| 7  | 10.9 | 17 | 11.6 |
| 8  | 10.7 | 18 | 10.6 |
| 9  | 11.6 | 19 | 10.0 |
| 10 | 10.5 | 20 | 10.3 |

计算 20 次信噪比均值为 11.1，符合信噪比为 10 的要求。根据以上检出浓度重复性试验得到的信噪比结果，确定浓度 0.9069mg/L 的异荳蔻苷为方法检出的定量限。

将浓度为 4.5346mg/L 的异荳蔻苷溶液稀释 20 倍，得到浓度为 0.2267mg/L 的异荳蔻苷溶液。将浓度为 0.2267mg/L 的异荳蔻苷标准溶液进样 20 次，计算异荳蔻苷色谱峰高与基线噪音的比值，计算结果如下。

表 15 浓度为 0.2267mg/L 的异荳蔻苷标准溶液信噪比情况

| 序号 | 信噪比 | 序号 | 信噪比 |
|----|-----|----|-----|
| 1  | 3.9 | 11 | 3.5 |
| 2  | 3.6 | 12 | 3.4 |
| 3  | 3.2 | 13 | 3.2 |

|    |     |    |     |
|----|-----|----|-----|
| 4  | 3.1 | 14 | 3.2 |
| 5  | 2.9 | 15 | 3.6 |
| 6  | 3.8 | 16 | 3.5 |
| 7  | 3.7 | 17 | 3.4 |
| 8  | 3.3 | 18 | 3.3 |
| 9  | 3.3 | 19 | 3.0 |
| 10 | 3.4 | 20 | 3.3 |

计算 20 次信噪比均值为 3.4，符合信噪比为 3 的要求。根据以上检出浓度重复性试验得到的信噪比结果，确定浓度 0.2267mg/L 的异荳蔻苷为方法检出的检出限。

### 3.3.8.2 荳蔻苷

精密称取荳蔻苷对照品（98.0%）9.96mg 至 50mL 容量瓶，加 50%甲醇溶解定容，摇匀，得到浓度为 195.216mg/L 的荳蔻苷对照品母液。精密量取荳蔻苷对照品母液 1mL 至 20mL 容量瓶中，加 50%甲醇溶解定容，得到浓度为 9.7698mg/L 的荳蔻苷溶液。再将浓度为 9.7698mg/L 的荳蔻苷溶液稀释 10 倍，得到浓度为 0.9761mg/L 的荳蔻苷溶液。

将浓度为 0.9761mg/L 的荳蔻苷标准溶液进样 20 次，计算荳蔻苷色谱峰高与基线噪音的比值，计算结果如下：

表 16 浓度为 0.9761mg/L 的荳蔻苷标准溶液信噪比情况

| 序号 | 信噪比  | 序号 | 信噪比  |
|----|------|----|------|
| 1  | 12.2 | 11 | 10.9 |
| 2  | 11.8 | 12 | 9.8  |
| 3  | 10.9 | 13 | 10.1 |
| 4  | 10.7 | 14 | 10.4 |
| 5  | 11.3 | 15 | 10.3 |
| 6  | 11.3 | 16 | 10.9 |
| 7  | 11.3 | 17 | 11.4 |
| 8  | 11.9 | 18 | 11.2 |
| 9  | 12.4 | 19 | 11.3 |
| 10 | 12.0 | 20 | 11.1 |

计算 20 次信噪比均值为 11.2，符合信噪比为 10 的要求。根据以上检出浓度重复性试验得到的

信噪比结果，确定浓度 0.9761mg/L 的茛菪苷为方法检出的定量限。

将浓度为 0.9761mg/L 的茛菪苷溶液稀释 1.67 倍，得到浓度为 0.5857mg/L 的茛菪苷溶液。将浓度为 0.5857mg/L 的茛菪苷标准溶液进样 20 次，计算茛菪苷色谱峰高与基线噪音的比值，计算结果如下。

表 17 浓度为 0.5857mg/L 的茛菪苷标准溶液信噪比情况

| 序号 | 信噪比 | 序号 | 信噪比 |
|----|-----|----|-----|
| 1  | 3.9 | 11 | 3.1 |
| 2  | 3.3 | 12 | 3.8 |
| 3  | 3.4 | 13 | 3.6 |
| 4  | 3.2 | 14 | 3.8 |
| 5  | 2.9 | 15 | 3.6 |
| 6  | 2.9 | 16 | 3.5 |
| 7  | 3.7 | 17 | 3.5 |
| 8  | 3.6 | 18 | 3.3 |
| 9  | 3.6 | 19 | 3.1 |
| 10 | 3.3 | 20 | 2.9 |

计算 20 次信噪比均值为 3.4，符合信噪比为 3 的要求。根据以上检出浓度重复性试验得到的信噪比结果，确定浓度 0.5857mg/L 的茛菪苷为方法检出的检出限。

3.3.8.3 牡荆苷

精密称取牡荆苷对照品（99.5%）11.82mg 至 50mL 容量瓶，加 50%甲醇溶解定容，摇匀，得到浓度为 235.218mg/L 的牡荆苷对照品母液。精密量取牡荆苷对照品母液 1mL 至 100mL 容量瓶中，加 50%甲醇溶解定容，得到浓度为 2.3522mg/L 的牡荆苷溶液。再将浓度为 2.3522mg/L 的牡荆苷溶液稀释 1.67 倍，得到浓度为 1.4113mg/L 的牡荆苷溶液。

将浓度为 1.4113mg/L 的牡荆苷标准溶液进样 20 次，计算牡荆苷色谱峰高与基线噪音的比值，计算结果如下。

表 18 浓度为 1.4113mg/L 的牡荆苷标准溶液信噪比情况

| 序号 | 信噪比  | 序号 | 信噪比  |
|----|------|----|------|
| 1  | 10.8 | 11 | 10.7 |
| 2  | 10.6 | 12 | 10.6 |

|    |      |    |      |
|----|------|----|------|
| 3  | 10.6 | 13 | 10.9 |
| 4  | 10.7 | 14 | 10.6 |
| 5  | 10.6 | 15 | 10.5 |
| 6  | 9.9  | 16 | 10.6 |
| 7  | 11.2 | 17 | 10.7 |
| 8  | 11.4 | 18 | 10.0 |
| 9  | 11.4 | 19 | 10.1 |
| 10 | 11.0 | 20 | 10.1 |

计算 20 次信噪比均值为 10.7，符合信噪比为 10 的要求。根据以上检出浓度重复性试验得到的信噪比结果，确定浓度 1.3931mg/L 的牡荆苷为方法检出的定量限。

将浓度为 2.3522mg/L 的牡荆苷溶液稀释 5 倍，得到浓度为 0.4704mg/L 的牡荆苷溶液。将浓度为 0.4704mg/L 的牡荆苷标准溶液进样 20 次，计算牡荆苷色谱峰高与基线噪音的比值，计算结果如下。

表 19 浓度为 0.4704mg/L 的牡荆苷标准溶液信噪比情况

| 序号 | 信噪比 | 序号 | 信噪比 |
|----|-----|----|-----|
| 1  | 3.8 | 11 | 3.1 |
| 2  | 3.2 | 12 | 3.0 |
| 3  | 3.2 | 13 | 3.4 |
| 4  | 3.6 | 14 | 3.5 |
| 5  | 3.5 | 15 | 3.4 |
| 6  | 3.4 | 16 | 3.4 |
| 7  | 3.3 | 17 | 3.2 |
| 8  | 3.7 | 18 | 3.1 |
| 9  | 3.6 | 19 | 2.8 |
| 10 | 3.0 | 20 | 3.0 |

计算 20 次信噪比均值为 3.3，符合信噪比为 3 的要求。根据以上检出浓度重复性试验得到的信噪比结果，确定浓度 0.4704mg/L 的牡荆苷为方法检出的检出限。

#### 3.3.8.4 异牡荆苷

精密称取异牡荆苷对照品（93.3%）13.68mg 至 25mL 容量瓶，加 50%甲醇溶解定容，摇匀，得到浓度为 510.5376mg/L 的异牡荆苷对照品母液。精密量取异牡荆苷对照品母液 0.5mL 至 100mL 容量瓶

中，加 50%甲醇溶解定容，得到浓度为 2.5527mg/L 的异牡荆苷溶液。再将浓度为 2.5527mg/L 的异牡荆苷溶液稀释 1.67 倍，得到浓度为 1.5316mg/L 的异牡荆苷溶液。

将浓度为 1.5316mg/L 的异牡荆苷标准溶液进样 20 次，计算异牡荆苷色谱峰高与基线噪音的比值，计算结果如下。

表 20 浓度为 1.5316mg/L 的异牡荆苷标准溶液信噪比情况

| 序号 | 信噪比  | 序号 | 信噪比  |
|----|------|----|------|
| 1  | 11.7 | 11 | 10.7 |
| 2  | 11.2 | 12 | 10.8 |
| 3  | 11.3 | 13 | 11.0 |
| 4  | 11.0 | 14 | 11.5 |
| 5  | 11.2 | 15 | 11.2 |
| 6  | 10.9 | 16 | 11.3 |
| 7  | 10.5 | 17 | 11.3 |
| 8  | 10.6 | 18 | 11.0 |
| 9  | 10.4 | 19 | 10.8 |
| 10 | 10.5 | 20 | 10.7 |

计算 20 次信噪比均值为 11.0，符合信噪比为 10 的要求。根据以上检出浓度重复性试验得到的信噪比结果，确定浓度 1.5316mg/L 的异牡荆苷为方法检出的定量限。

将浓度为 2.5527mg/L 的异牡荆苷溶液稀释 5 倍，得到浓度为 0.5105mg/L 的异牡荆苷溶液。将浓度为 0.5105mg/L 的异牡荆苷标准溶液进样 20 次，计算异牡荆苷色谱峰高与基线噪音的比值，计算结果如下。

表 21 浓度为 0.5105mg/L 的异牡荆苷标准溶液信噪比情况

| 序号 | 信噪比 | 序号 | 信噪比 |
|----|-----|----|-----|
| 1  | 4.1 | 11 | 2.9 |
| 2  | 3.9 | 12 | 4.0 |
| 3  | 3.6 | 13 | 3.7 |
| 4  | 3.6 | 14 | 3.5 |
| 5  | 3.4 | 15 | 3.3 |
| 6  | 3.2 | 16 | 3.1 |

|    |     |    |     |
|----|-----|----|-----|
| 7  | 3.9 | 17 | 3.7 |
| 8  | 3.7 | 18 | 3.6 |
| 9  | 3.4 | 19 | 3.2 |
| 10 | 3.0 | 20 | 3.3 |

计算 20 次信噪比均值为 3.5，符合信噪比为 3 的要求。根据以上检出浓度重复性试验得到的信噪比结果，确定浓度 0.5105mg/L 的异牡荆苷为方法检出的检出限。

总结：该方法异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷的定量限分别为 0.9069mg/L、0.9761mg/L、1.3931mg/L、1.5316mg/L；检出限分别为 0.2267mg/L、0.5857mg/L、0.4704mg/L、0.5105mg/L。

### 3.3.9 线性关系试验

精密称取异荭草苷 12.06mg 至 25mL 容量瓶中，按照 3.3.4.1 项下制备方法加 50%甲醇溶液溶解制成对照品储备液，再精密吸取该储备液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0mL 分别至 10mL 容量瓶中，加 50%甲醇溶液至刻度，摇匀，按 3.3.3 项下色谱条件分析，测定峰面积。见表 22。

精密称取荭草苷 9.96mg 至 50mL 容量瓶中，按照 3.3.4.1 项下制备方法加 50%甲醇溶液溶解制成对照品储备液，再精密吸取该储备液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0mL 分别至 10mL 容量瓶中，加 50%甲醇溶液至刻度，摇匀，按 3.3.3 项下色谱条件分析，测定峰面积。见表 23。

精密称取牡荆苷 11.82mg 至 50mL 容量瓶中，按照 3.3.4.1 项下制备方法加 50%甲醇溶液溶解制成对照品储备液，再精密吸取该储备液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0mL 分别至 10mL 容量瓶中，加 50%甲醇溶液至刻度，摇匀，按 3.3.3 项下色谱条件分析，测定峰面积。见表 24。

精密称取异牡荆苷 13.68mg 至 25mL 容量瓶中，按照 3.3.4.1 项下制备方法加 50%甲醇溶液溶解制成对照品储备液，再精密吸取该储备液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0mL 分别至 10mL 容量瓶中，加 50%甲醇溶液至刻度，摇匀，按 3.3.3 项下色谱条件分析，测定峰面积。见表 25。

表 22 异荭草苷标准曲线与峰面积列表

| 编号           | 1       | 2       | 3       | 4        | 5        | 6        | 7        |
|--------------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|
| 浓度<br>(mg/L) | 22.6728 | 45.3456 | 90.6912 | 181.3824 | 272.0736 | 362.7648 | 453.4560 |
| 峰面积          | 557.31  | 1155.75 | 2367.53 | 4751.70  | 7119.70  | 9140.25  | 11093.00 |

表 23 荭草苷标准曲线与峰面积列表

| 编号 | 1      | 2       | 3       | 4       | 5        | 6        | 7        |
|----|--------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| 浓度 | 9.7608 | 19.5216 | 39.0432 | 78.0864 | 117.1296 | 156.1728 | 195.2160 |

|        |        |        |        |         |         |         |         |
|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
| (mg/L) |        |        |        |         |         |         |         |
| 峰面积    | 227.95 | 468.84 | 949.32 | 1895.53 | 2847.16 | 3813.61 | 4788.88 |

表 24 牡荆苷标准曲线与峰面积列表

|        |         |         |         |         |          |          |          |
|--------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| 编号     | 1       | 2       | 3       | 4       | 5        | 6        | 7        |
| 浓度     |         |         |         |         |          |          |          |
| (mg/L) | 11.7609 | 23.5218 | 47.0436 | 94.0872 | 141.1308 | 188.1744 | 235.2180 |
| 峰面积    | 170.78  | 349.74  | 698.86  | 1404.02 | 2112.775 | 2811.704 | 3514.04  |

表 25 异牡荆苷标准曲线与峰面积列表

|        |         |         |          |          |          |          |          |
|--------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 编号     | 1       | 2       | 3        | 4        | 5        | 6        | 7        |
| 浓度     |         |         |          |          |          |          |          |
| (mg/L) | 25.5269 | 51.0538 | 102.1076 | 204.2152 | 306.3228 | 408.4304 | 510.5376 |
| 峰面积    | 546.26  | 1091.44 | 2219.19  | 4478.17  | 6684.13  | 8873.73  | 10836.60 |

以异荭草苷对照品浓度（mg/L）为横坐标，峰面积为纵坐标，求得回归方程： $Y=24.8312382 \cdot X+89.582884$ ， $R^2=0.99923$ 。结果表明异荭草苷在 22.6728–453.4560mg/L 范围内与峰面积呈良好的线形关系，标准曲线如下图 6。

以荭草苷对照品浓度(mg/L)为横坐标,峰面积为纵坐标,求得回归方程: $Y=24.50964 \cdot X-10.04767$ ， $R^2=0.99999$ 。结果表明荭草苷在 9.7608–195.2160mg/L 范围内与峰面积呈良好的线形关系，标准曲线如下图 7。

以牡荆苷对照品浓度（mg/L）为横坐标，峰面积为纵坐标，求得回归方程： $Y=14.9570874 \cdot X-2.5382366$ ， $R^2=1.00000$ 。结果表明牡荆苷在 11.7609–235.2180 mg/L 范围内与峰面积呈良好的线形关系，标准曲线如下图 8。

以异牡荆苷对照品浓度（mg/L）为横坐标，峰面积为纵坐标，求得回归方程： $Y=21.4427937 \cdot X+30.672845$ ， $R^2=0.99982$ 。结果表明异牡荆苷在 25.5269– 510.5376mg/L 范围内与峰面积呈良好的线形关系，标准曲线如下图 9。

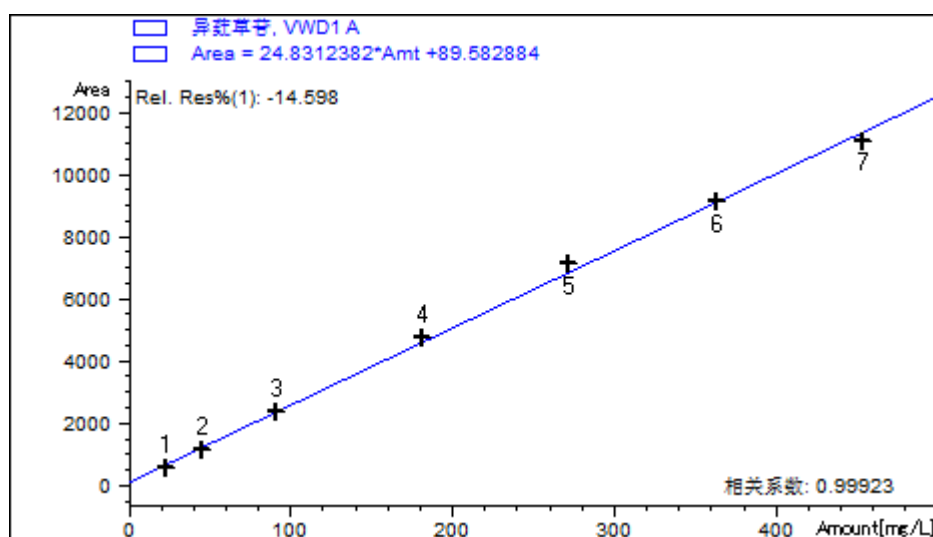


图6 异荭草苷标准曲线

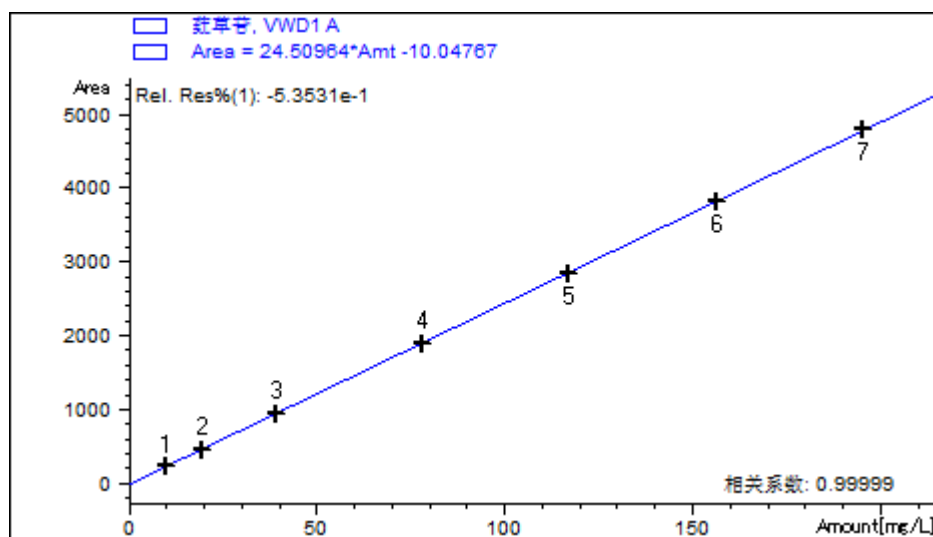


图7 荭草苷标准曲线

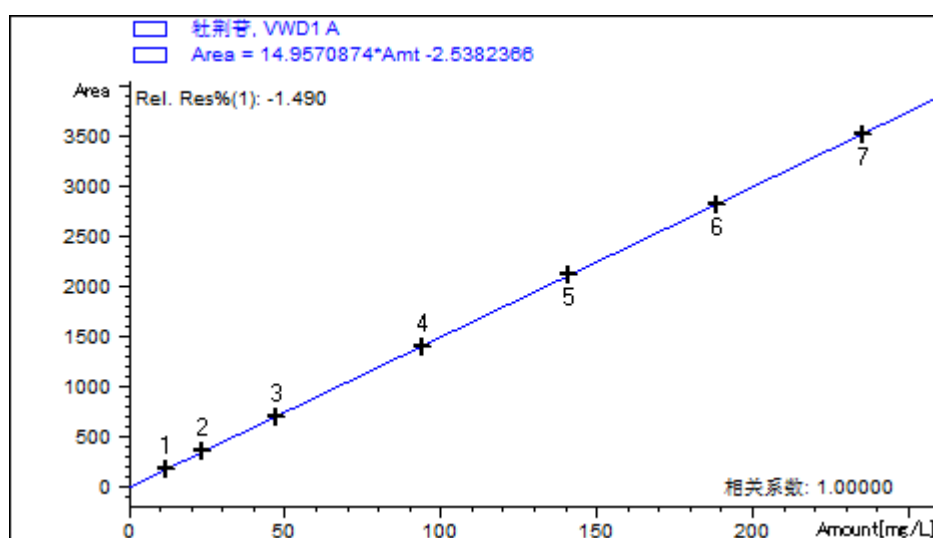


图8 荭草苷标准曲线



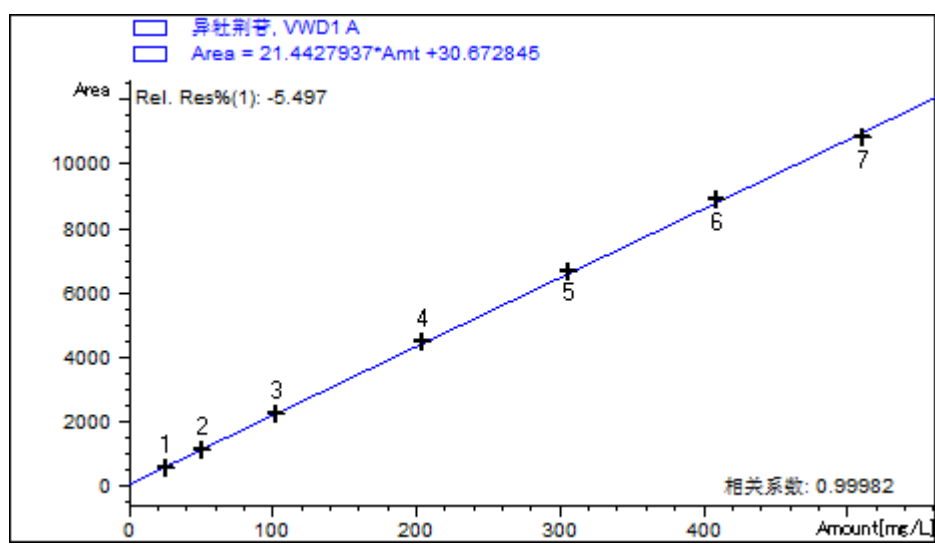


图 9 异牡荆苷标准曲线

### 3.3.10 精密度试验

#### 3.3.10.1 重复性试验

取竹叶提取物（批号：20231101）同一天按照 3.3.4.2 项下制备 6 份供试品溶液，按 3.3.3 项下色谱条件测定，异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量分别为 2.39%、1.06%、0.29%、0.46%，RSD 值分别为 1.00%、0.72%、2.62%、1.24%。分离度应大于 1.5。试验结果见表 26。

表 26 重复性试验结果

| 编号             | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | RSD (%,<br>n=6) |
|----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------------|
| 称样量/mg         | 103.51 | 105.35 | 105.66 | 102.51 | 105.90 | 103.87 |                 |
| 异荭草苷浓度/mg/L    | 245.85 | 249.21 | 252.73 | 242.81 | 253.05 | 251.92 |                 |
| 荭草苷浓度<br>/mg/L | 109.73 | 110.42 | 112.70 | 107.92 | 112.53 | 110.29 |                 |
| 牡荆苷浓度<br>/mg/L | 28.76  | 29.65  | 30.10  | 29.38  | 31.28  | 31.10  |                 |
| 异牡荆苷浓度/mg/L    | 47.76  | 48.27  | 48.40  | 48.11  | 49.45  | 47.49  |                 |
| 异荭草苷含量/%       | 2.38   | 2.37   | 2.39   | 2.37   | 2.39   | 2.43   | 1.00            |
| 荭草苷含量/%        | 1.06   | 1.05   | 1.07   | 1.05   | 1.06   | 1.06   | 0.72            |
| 牡荆苷含量/%        | 0.28   | 0.28   | 0.28   | 0.29   | 0.30   | 0.30   | 2.62            |
| 异牡荆苷含量/%       | 0.46   | 0.46   | 0.46   | 0.47   | 0.47   | 0.46   | 1.24            |

|       |      |      |      |      |      |      |
|-------|------|------|------|------|------|------|
| 分离度 1 | 2.10 | 2.12 | 2.07 | 2.84 | 2.11 | 2.15 |
| 分离度 2 | 2.42 | 2.44 | 2.44 | 2.41 | 2.40 | 2.42 |
| 分离度 3 | 2.20 | 2.19 | 2.21 | 2.16 | 2.09 | 2.17 |
| 分离度 4 | 2.48 | 2.45 | 2.40 | 2.48 | 2.40 | 2.44 |

### 3.3.10.2 中间精密度

取竹叶提取物（批号：20231101），由不同人员按照 3.3.4.2 项下制备供试品溶液，在不同日期不同仪器（Waters e2695-2489 高效液相色谱仪）测定 6 次异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量分别为 2.40%、1.05%、0.29%、0.46%，RSD 值分别为 0.90%、1.16%、2.70%、1.39%。试验结果见表 27。

表 27 中间精密度试验结果

| 编号            | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | RSD（%，<br>n=6） |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|
| 称样量 mg        | 100.02 | 101.34 | 105.68 | 101.20 | 103.78 | 102.57 |                |
| 异荭草苷浓度 mg/L   | 238.05 | 244.23 | 250.46 | 245.92 | 249.07 | 245.14 |                |
| 荭草苷浓度<br>mg/L | 103.02 | 105.39 | 113.08 | 107.27 | 107.93 | 107.70 |                |
| 牡荆苷浓度<br>mg/L | 29.01  | 30.40  | 31.70  | 28.34  | 30.10  | 29.75  |                |
| 异牡荆苷浓度 mg/L   | 45.01  | 47.63  | 48.61  | 46.55  | 46.70  | 47.18  |                |
| 异荭草苷含量 %      | 2.38   | 2.41   | 2.37   | 2.43   | 2.40   | 2.39   | 0.90           |
| 荭草苷含量 %       | 1.03   | 1.04   | 1.07   | 1.06   | 1.04   | 1.05   | 1.16           |
| 牡荆苷含量 %       | 0.29   | 0.30   | 0.30   | 0.28   | 0.29   | 0.29   | 2.70           |
| 异牡荆苷含量 %      | 0.45   | 0.47   | 0.46   | 0.46   | 0.45   | 0.46   | 1.39           |

### 3.3.11 稳定性试验

取竹叶提取物（批号：20231101），按照 3.3.4.2 项下制备供试品溶液，按 3.3.3 项下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、12、24 小时测定，记录色谱图异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷峰面积，结果显示供试品溶液中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷峰面积 RSD 值分别为 0.79%、0.64%、1.24%、1.03%，表明本供试品溶液在 24 小时内稳定。试验结果见表 28。

表 28 稳定性试验结果

| 时间<br>/小时 | 0       | 2       | 4       | 6       | 8       | 12      | 24      | RSD<br>(%,<br>n=6) |
|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------------------|
| 异荭草苷      | 6194.44 | 6238.07 | 6238.07 | 6345.20 | 6282.51 | 6299.87 | 6287.84 | 0.79               |
| 荭草苷       | 2679.42 | 2660.87 | 2718.38 | 2693.30 | 2686.65 | 2688.20 | 2681.99 | 0.64               |
| 牡荆苷       | 427.60  | 439.99  | 429.87  | 427.90  | 429.59  | 428.66  | 422.23  | 1.24               |
| 异牡荆苷      | 1054.83 | 1033.89 | 1044.05 | 1048.99 | 1064.80 | 1035.66 | 1044.71 | 1.03               |

### 3.3.12 准确度试验

取竹叶提取物(批号: 20231101, 其中: 异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量分别为 2.39%、1.06%、0.29%、0.46%) 精密称定约 50mg 于 6 个 10 mL 容量瓶中。

另取异荭草苷(中国食品药品检定研究院, 纯度 94.0%) 12.06mg 于 25mL 容量瓶中, 加 50%甲醇溶解并定容(此对照溶液中含异荭草苷 453.456mg/L), 分别吸取该对照品溶液 2.6mL(以异荭草苷计 1.1790mg) 加入含样品的 6 个容量瓶中。

另取荭草苷(中国食品药品检定研究院, 纯度 98.0%) 9.96mg 于 50mL 容量瓶中, 加 50%甲醇溶解并定容(此对照溶液中含荭草苷 195.216mg/L), 分别吸取该对照品溶液 2.7mL(以荭草苷计 0.5271mg) 加入含样品的 6 个容量瓶中。

另取牡荆苷(中国食品药品检定研究院, 纯度 99.5%) 11.82mg 于 50mL 容量瓶中, 加 50%甲醇溶解并定容(此对照溶液中含牡荆苷 235.218mg/L), 分别吸取该对照品溶液 0.6mL(以牡荆苷计 0.1411mg) 加入含样品的 6 个容量瓶中。

另取异牡荆苷(上海诗丹德标准技术服务有限公司, 纯度 93.3%) 13.68mg 于 25mL 容量瓶中, 加 50%甲醇溶解并定容(此对照溶液中含异牡荆苷 510.5376mg/L), 分别吸取该对照品溶液 0.5mL(以异牡荆苷计 0.2553mg) 加入含样品的 6 个容量瓶中。

静置 10 分钟后, 加入 50%乙醇溶液超声(250W, 53KHz) 提取 10min 后, 放置至室温, 用 50%乙醇溶液定容至刻度, 制成供回收率测定用供试品溶液, 按照 3.3.3 色谱条件测定, 计算异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷平均回收率分别为 104.43%、103.27%、105.88%、94.58%, RSD 值分别为 0.41%、1.61%、1.04%、0.79%, 均符合要求。试验结果见表 29-32。

表 29 异荭草苷准确度试验结果

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 样品中异荭草苷<br>含量 (mg) | 对照品异荭草苷<br>加入量 (mg) | 异荭草苷<br>测得量 (mg) | 异荭草苷<br>回收率 (%) |
|----|-------------|--------------------|---------------------|------------------|-----------------|
| 1  | 53.28       | 1.2734             | 1.1790              | 2.5093           | 104.83          |
| 2  | 52.80       | 1.2619             | 1.1790              | 2.4889           | 104.07          |
| 3  | 53.54       | 1.2796             | 1.1790              | 2.5111           | 104.45          |
| 4  | 52.86       | 1.2634             | 1.1790              | 2.4991           | 104.81          |
| 5  | 52.72       | 1.2600             | 1.1790              | 2.4938           | 104.65          |
| 6  | 53.77       | 1.2851             | 1.1790              | 2.5086           | 103.78          |

表 30 荭草苷准确度试验结果

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 样品中荭草苷<br>含量 (mg) | 对照品荭草苷<br>加入量 (mg) | 荭草苷<br>测得量 (mg) | 荭草苷<br>回收率 (%) |
|----|-------------|-------------------|--------------------|-----------------|----------------|
| 1  | 53.28       | 0.5648            | 0.5271             | 1.1134          | 104.09         |
| 2  | 52.80       | 0.5597            | 0.5271             | 1.1016          | 102.81         |
| 3  | 53.54       | 0.5675            | 0.5271             | 1.1143          | 103.74         |
| 4  | 52.86       | 0.5603            | 0.5271             | 1.1131          | 104.88         |
| 5  | 52.72       | 0.5588            | 0.5271             | 1.1067          | 103.94         |
| 6  | 53.77       | 0.5700            | 0.5271             | 1.0979          | 100.16         |

表 31 牡荆苷准确度试验结果

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 样品中牡荆苷<br>含量 (mg) | 对照品牡荆苷<br>加入量 (mg) | 牡荆苷<br>测得量 (mg) | 牡荆苷<br>回收率 (%) |
|----|-------------|-------------------|--------------------|-----------------|----------------|
| 1  | 53.28       | 0.1545            | 0.1411             | 0.3033          | 105.43         |
| 2  | 52.80       | 0.1531            | 0.1411             | 0.3005          | 104.43         |
| 3  | 53.54       | 0.1553            | 0.1411             | 0.3067          | 107.30         |
| 4  | 52.86       | 0.1533            | 0.1411             | 0.3037          | 106.57         |
| 5  | 52.72       | 0.1529            | 0.1411             | 0.3033          | 106.58         |
| 6  | 53.77       | 0.1559            | 0.1411             | 0.3041          | 104.99         |

表 32 异牡荆苷准确度试验结果

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 样品中异牡荆苷<br>含量 (mg) | 对照品异牡荆苷<br>加入量 (mg) | 异牡荆苷<br>测得量 (mg) | 异牡荆苷<br>回收率 (%) |
|----|-------------|--------------------|---------------------|------------------|-----------------|
| 1  | 53.28       | 0.2451             | 0.2553              | 0.4879           | 95.12           |
| 2  | 52.80       | 0.2429             | 0.2553              | 0.4855           | 95.04           |

|   |       |        |        |        |       |
|---|-------|--------|--------|--------|-------|
| 3 | 53.54 | 0.2463 | 0.2553 | 0.4845 | 93.32 |
| 4 | 52.86 | 0.2432 | 0.2553 | 0.4831 | 94.00 |
| 5 | 52.72 | 0.2425 | 0.2553 | 0.4854 | 95.15 |
| 6 | 53.77 | 0.2473 | 0.2553 | 0.4894 | 94.82 |

### 3.3.13 超声提取时间对含量测定的影响

取竹叶提取物（批号：20231101，其中：异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量分别为 2.39%、1.06%、0.29%、0.46%）6 份，各约 100mg，至 10 mL 容量瓶中，加入 8.0mL50%乙醇溶液，分别超声（250W，53KHz）提取 10min、20min、30min 后定容，测定，检测结果见表 33。

表 33 超声提取时间对含量测定的影响

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 时间<br>(min) | 检测浓度 (mg/L) |         |         |          | 含量 (%)   |         |         |          |
|----|-------------|-------------|-------------|---------|---------|----------|----------|---------|---------|----------|
|    |             |             | 异荭<br>草苷    | 荭草<br>苷 | 牡荆<br>苷 | 异牡<br>荆苷 | 异荭<br>草苷 | 荭草<br>苷 | 牡荆<br>苷 | 异牡<br>荆苷 |
| 1  | 103.51      | 10          | 245.85      | 109.73  | 28.76   | 47.76    | 2.38     | 1.06    | 0.28    | 0.46     |
| 2  | 105.35      | 10          | 249.21      | 110.42  | 29.65   | 48.27    | 2.37     | 1.05    | 0.28    | 0.46     |
| 3  | 100.21      | 20          | 236.50      | 104.22  | 28.06   | 46.10    | 2.36     | 1.04    | 0.28    | 0.46     |
| 4  | 100.32      | 20          | 239.76      | 104.33  | 27.09   | 47.15    | 2.39     | 1.04    | 0.27    | 0.47     |
| 5  | 101.47      | 30          | 243.53      | 107.56  | 28.41   | 47.69    | 2.40     | 1.06    | 0.28    | 0.47     |
| 6  | 101.66      | 30          | 241.95      | 106.74  | 27.45   | 47.78    | 2.38     | 1.05    | 0.27    | 0.47     |

表 33 显示，超声提取 10-30min，异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷平均含量分别为 2.38%、1.05%、0.28%、0.47%，RSD 值分别为 0.59%、0.85%、1.87%、1.18%，检测结果稳定，因此，本标准方法选用超声时间为 10min。

### 3.3.14 不同溶剂对含量测定的影响

取竹叶提取物（批号：20231101，其中：异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量分别为 2.39%、1.06%、0.29%、0.46%）6 份，各约 100mg，至 10 mL 容量瓶中，加入 8.0mL30%、50%、70%、90%乙醇溶液，分别超声（250W，53KHz）提取 10min 后定容，测定。检测结果见表 34。

表 34 不同溶剂对含量测定的影响

| 编号 | 称样量<br>(mg) | 溶剂    | 溶解性 | 异荭草苷含<br>量 (%) | 荭草苷含量<br>(%) | 牡荆苷含量<br>(%) | 异牡荆苷含<br>量 (%) |
|----|-------------|-------|-----|----------------|--------------|--------------|----------------|
| 1  | 101.26      | 30%乙醇 | 微溶  | 2.26           | 1.03         | 0.25         | 0.44           |
| 2  | 103.51      | 50%乙醇 | 易溶  | 2.38           | 1.06         | 0.28         | 0.46           |

|   |        |       |    |      |      |      |      |
|---|--------|-------|----|------|------|------|------|
| 3 | 100.38 | 70%乙醇 | 易溶 | 2.37 | 1.06 | 0.27 | 0.46 |
| 4 | 102.47 | 90%乙醇 | 微溶 | 2.18 | 0.99 | 0.19 | 0.36 |

表 34 显示，不同溶解溶剂对于样品的溶解性不一，从样品溶解度、提取工艺和检测结果选用 50%乙醇溶液溶解样品。

### 3.3.15 耐用性试验

#### 3.3.15.1 不同色谱柱的耐用性试验

取竹叶提取物（批号：20231101，其中：异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量分别为 2.39%、1.06%、0.29%、0.46%）按照 3.3.4.2 项下制备的两份供试品溶液，按照 3.3.3 项下色谱条件分别测定样品的含量，检测结果见表 35，不同色谱柱的分离效果见图 10-12。

色谱柱信息：

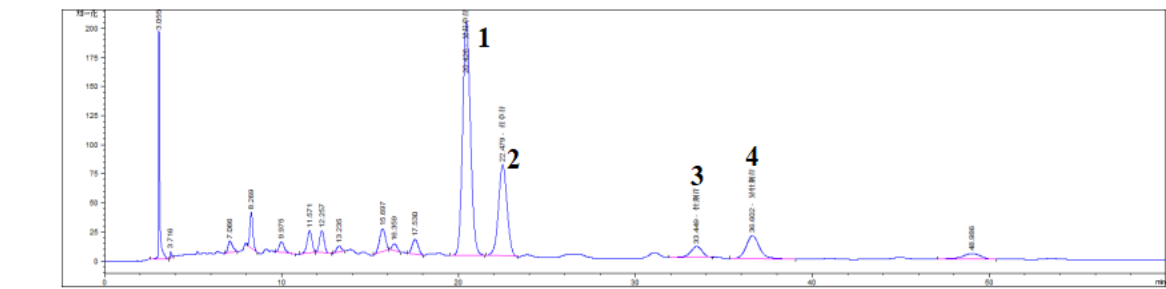
色谱柱 1:Agilent SB-Aq 柱，5μm，4.6×250mm，Agilent 公司；

色谱柱 2:Sepax HP C18，5μm，4.6×250mm，Sepax 公司；

色谱柱 3:Waters T3 柱，5μm，4.6×250mm，Waters 公司。

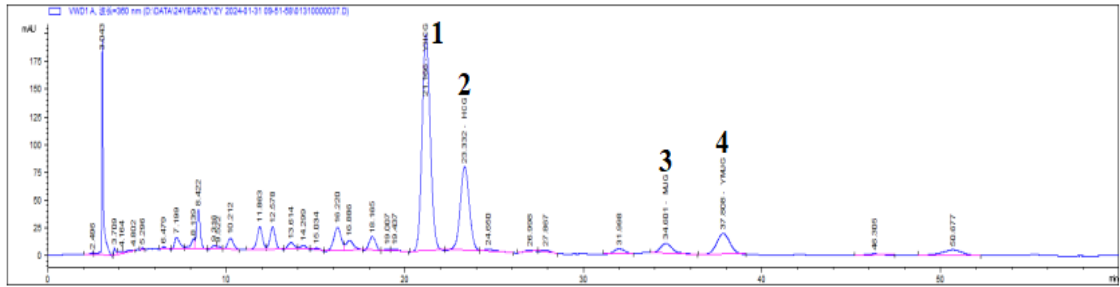
表 35 不同色谱柱对含量测定的影响

| 色谱柱类型 | 称样量<br>(mg) | 异荭草苷含量<br>(%) | 荭草苷含量<br>(%) | 牡荆苷含量<br>(%) | 异牡荆苷含量<br>(%) |
|-------|-------------|---------------|--------------|--------------|---------------|
| 色谱柱 1 | 103.51      | 2.38          | 1.06         | 0.28         | 0.46          |
|       | 105.35      | 2.37          | 1.05         | 0.28         | 0.46          |
|       | 平均值         | 2.38          | 1.06         | 0.28         | 0.46          |
| 色谱柱 2 | 103.51      | 2.37          | 1.05         | 0.28         | 0.46          |
|       | 105.35      | 2.36          | 1.05         | 0.27         | 0.47          |
|       | 平均值         | 2.37          | 1.05         | 0.28         | 0.47          |
| 色谱柱 3 | 103.51      | 2.37          | 1.06         | 0.28         | 0.46          |
|       | 105.35      | 2.37          | 1.05         | 0.28         | 0.46          |
|       | 平均值         | 2.37          | 1.06         | 0.28         | 0.46          |



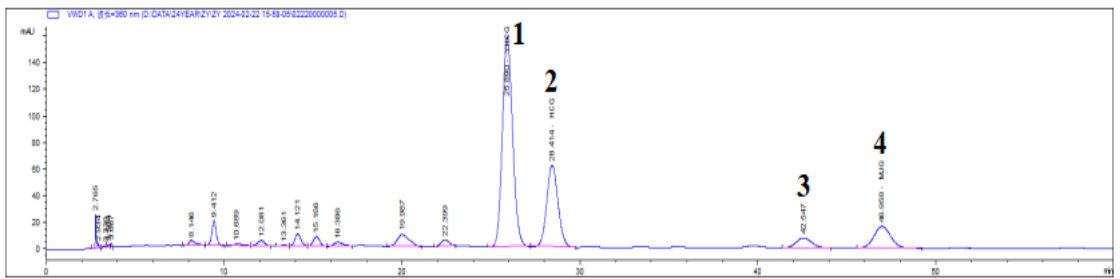
1-异荭草苷、2-荭草苷、3-牡荆苷、4-异牡荆苷

图 10 色谱柱 1 (Agilent SB-Aq 柱, 5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm) 色谱图



1-异荭草苷、2-荭草苷、3-牡荆苷、4-异牡荆苷

图 11 色谱柱 2 (Sepax HP C18, 5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm) 色谱图



1-异荭草苷、2-荭草苷、3-牡荆苷、4-异牡荆苷

图 12 色谱柱 3 (Waters T3 柱, 5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm) 色谱图

表 35 和图 10-12 显示, 三种不同色谱柱测定的结果一致, 三种不同的色谱柱均可有效分离异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷成分。因此, 本标准方法中色谱柱选用十八烷基键合硅胶柱 (4.6mm $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m)。

### 3.3.15.2 色谱柱柱温的耐用性试验

取竹叶提取物 (批号: 20231101, 其中: 异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量分别为 2.39%、1.06%、0.29%、0.46%) 按照 3.3.4.2 项下制备的两份供试品溶液, 按照 3.3.3 项下色谱条件分别测定样品的含量, 分别调整柱温为 25 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ C、35 $^{\circ}$ C, 检测结果见表 36。

表 36 色谱柱柱温的耐用性试验结果

| 柱温 ( $^{\circ}$ C) | 称样量 (mg) | 异荭草苷含量 (%) | 荭草苷含量 (%) | 牡荆苷含量 (%) | 异牡荆苷含量 (%) |
|--------------------|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 25                 | 103.51   | 2.36       | 1.05      | 0.27      | 0.46       |
|                    | 105.35   | 2.37       | 1.05      | 0.28      | 0.46       |
|                    | 平均值      | 2.37       | 1.05      | 0.28      | 0.46       |

|    |        |      |      |      |      |
|----|--------|------|------|------|------|
| 30 | 103.51 | 2.38 | 1.06 | 0.28 | 0.46 |
|    | 105.35 | 2.37 | 1.05 | 0.28 | 0.46 |
|    | 平均值    | 2.38 | 1.06 | 0.28 | 0.46 |
| 35 | 103.51 | 2.37 | 1.04 | 0.27 | 0.45 |
|    | 105.35 | 2.36 | 1.05 | 0.28 | 0.46 |
|    | 平均值    | 2.37 | 1.05 | 0.28 | 0.46 |

表 36 结果显示，色谱条件在不同温度下的检测结果差异不大，因此判定本色谱条件在不同柱温下耐用。

### 3.3.15.3 流速的耐用性试验

取竹叶提取物（批号：20231101，其中：异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量分别为 2.39%、1.06%、0.29%、0.46%）按照 3.3.4.2 项下制备的两份供试品溶液，按照 3.3.3 项下色谱条件分别测定样品的含量，分别调整流速为 0.8mL/min、1.0mL/min、1.2mL/min，检测结果见表 37。

表 37 流速的耐用性试验结果

| 流速 (mL/min) | 称样量 (mg) | 异荭草苷含量 (%) | 荭草苷含量 (%) | 牡荆苷含量 (%) | 异牡荆苷含量 (%) |
|-------------|----------|------------|-----------|-----------|------------|
| 0.8         | 103.51   | 2.36       | 1.05      | 0.27      | 0.46       |
|             | 105.35   | 2.38       | 1.06      | 0.28      | 0.47       |
|             | 平均值      | 2.37       | 1.05      | 0.28      | 0.47       |
| 1.0         | 103.51   | 2.38       | 1.06      | 0.28      | 0.46       |
|             | 105.35   | 2.37       | 1.05      | 0.27      | 0.46       |
|             | 平均值      | 2.38       | 1.06      | 0.28      | 0.46       |
| 1.2         | 103.51   | 2.37       | 1.04      | 0.27      | 0.45       |
|             | 105.35   | 2.36       | 1.05      | 0.28      | 0.46       |
|             | 平均值      | 2.37       | 1.05      | 0.28      | 0.46       |

表 37 结果显示，色谱条件在不同流速下的检测结果差异不大，因此判定本色谱条件在不同流速下耐用。

上述方法学验证表明，竹叶提取物中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量的高效液相色谱法其系统适应性、线性关系、精密度、稳定性、准确度、耐用性等均符合要求，该方法稳定、可靠、可行，可以作为竹叶提取物中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷的含量测定方法，订入本标准。

### 3.3.16 样品检测



取本品按 3.3.4.2 项下制备供试品溶液，按照 3.3.3 项下色谱条件测定，取 10  $\mu$ L，注入液相色谱仪，记录色谱图。另取异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷对照品按 3.3.4.1 项下制备的对照品溶液，同法测定，按 3.3.6 项下公式计算，即得。

竹叶提取物中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量测定结果见表 38，色谱图见图 13-30。

表 38 竹叶提取物含量检测结果

| 编号 | 样品来源  | 批号       | 异荭草苷<br>(%) | 荭草苷<br>(%) | 牡荆苷<br>(%) | 异牡荆苷<br>(%) | 四种之和<br>(%) |
|----|-------|----------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|
| 1  | 劲牌持正堂 | 20230501 | 3.19        | 1.40       | 0.28       | 0.29        | 5.16        |
| 2  | 劲牌持正堂 | 20230801 | 3.42        | 1.46       | 0.26       | 0.22        | 5.36        |
| 3  | 劲牌持正堂 | 20230901 | 2.67        | 1.25       | 0.26       | 0.33        | 4.51        |
| 4  | 劲牌持正堂 | 20230902 | 2.25        | 1.06       | 0.27       | 0.39        | 3.98        |
| 5  | 劲牌持正堂 | 20231101 | 2.29        | 1.09       | 0.25       | 0.36        | 3.99        |
| 6  | 劲牌持正堂 | 20240101 | 3.59        | 1.36       | 0.36       | 0.88        | 6.18        |
| 7  | 湖南金叶  | 20230201 | 3.60        | 1.37       | 0.37       | 0.87        | 6.21        |
| 8  | 湖南金叶  | 20230301 | 3.58        | 1.37       | 0.36       | 0.88        | 6.19        |
| 9  | 湖南金叶  | 20230302 | 3.60        | 1.38       | 0.36       | 0.87        | 6.22        |
| 10 | 湖南金叶  | 20230701 | 3.24        | 1.24       | 0.32       | 0.77        | 5.57        |
| 11 | 浙江圣氏  | 20230502 | 3.22        | 1.23       | 0.32       | 0.76        | 5.53        |
| 12 | 浙江圣氏  | 20231001 | 3.20        | 1.24       | 0.31       | 0.75        | 5.50        |
| 13 | 浙江圣氏  | 20231101 | 3.34        | 1.30       | 0.33       | 0.79        | 5.75        |
| 14 | 浙江圣氏  | 20231201 | 3.32        | 1.30       | 0.33       | 0.78        | 5.72        |
| 15 | 浙江圣氏  | 20240220 | 3.36        | 1.31       | 0.33       | 0.79        | 5.79        |
| 16 | 陕西斯诺特 | 20240701 | 2.05        | 1.04       | 0.24       | 0.35        | 3.68        |
| 17 | 陕西斯诺特 | 20240702 | 2.11        | 1.06       | 0.25       | 0.37        | 3.79        |
| 18 | 湖南南陌  | 20240703 | 2.01        | 1.01       | 0.21       | 0.30        | 3.53        |

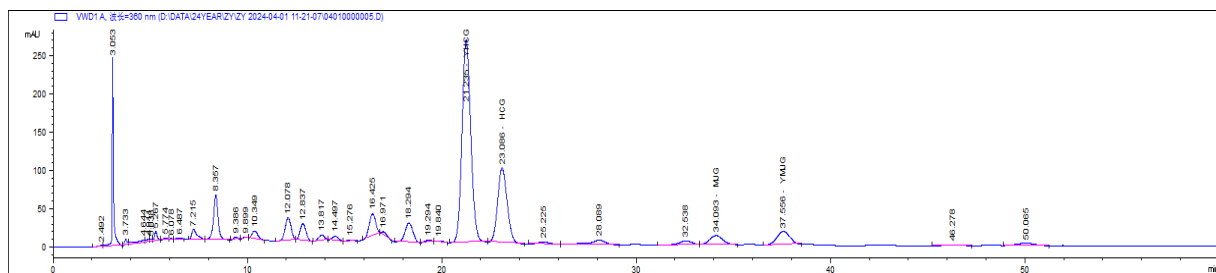


图 13 竹叶提取物（批号：20230501）色谱图

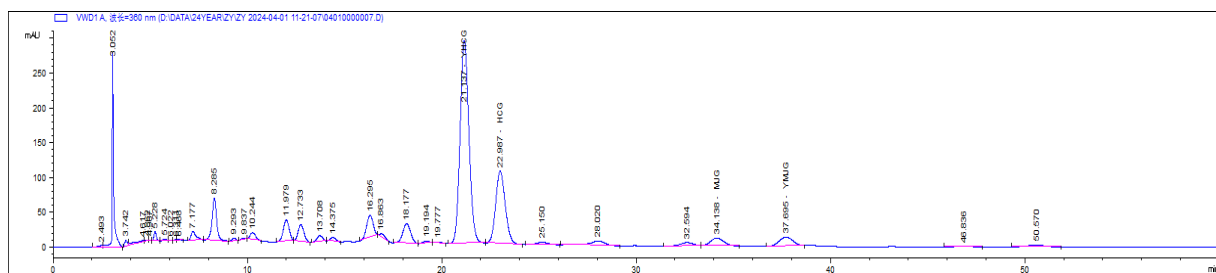


图 14 竹叶提取物（批号：20230801）色谱图

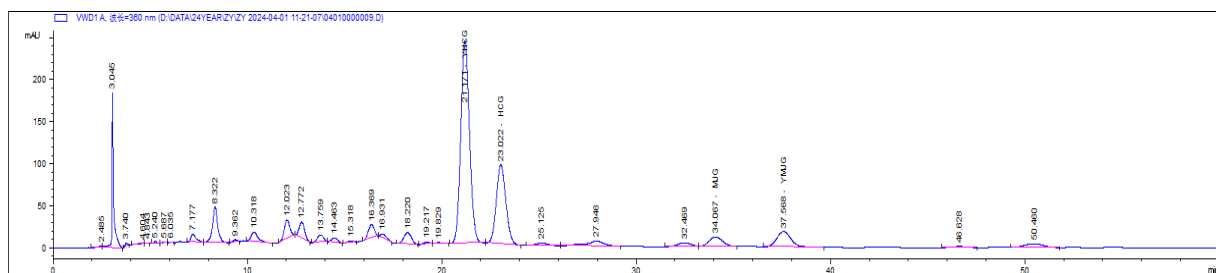


图 15 竹叶提取物（批号：20230901）色谱图

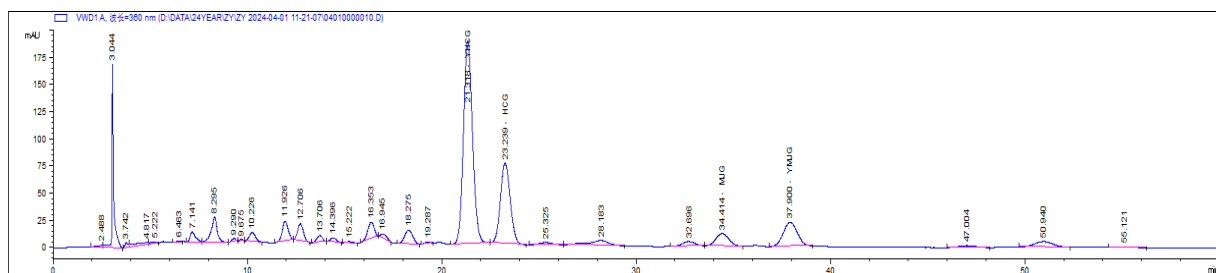


图 16 竹叶提取物（批号：20230902）色谱图

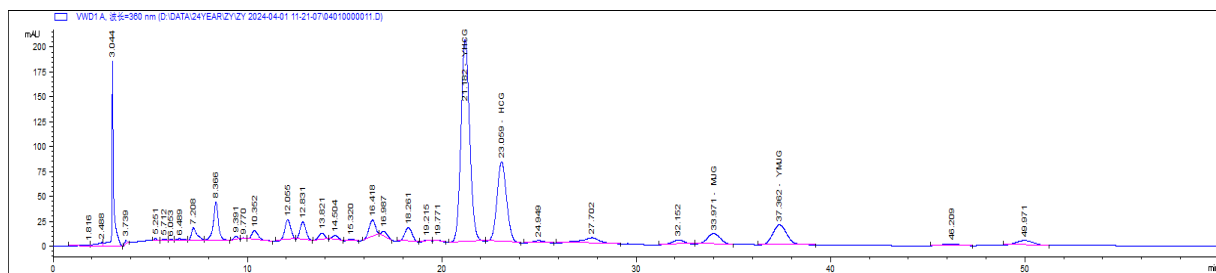


图 17 竹叶提取物（批号：20231101）色谱图

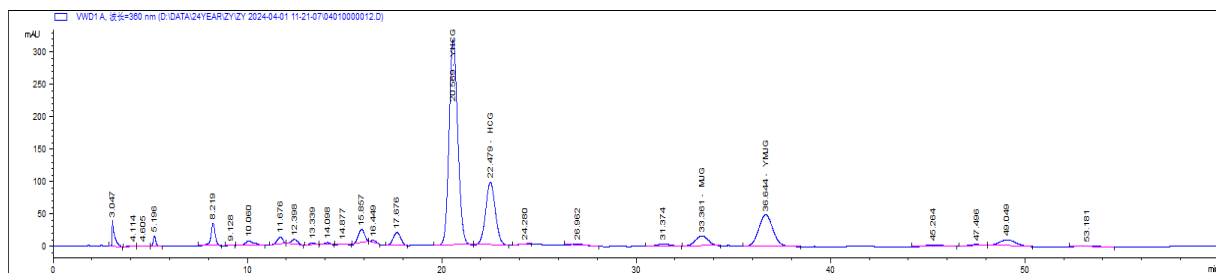


图 18 竹叶提取物（批号：20240101）色谱图

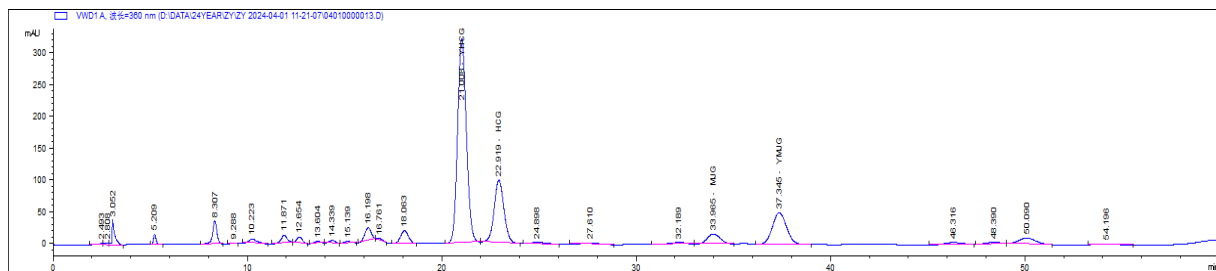


图 19 竹叶提取物（批号：20230201）色谱图

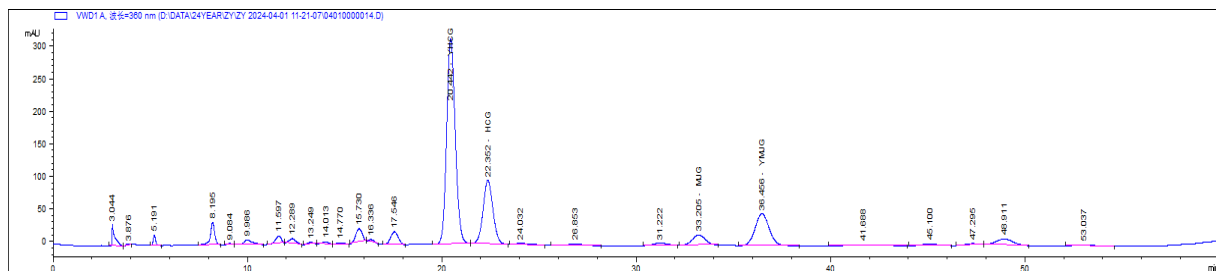


图 20 竹叶提取物（批号：20230301）色谱图

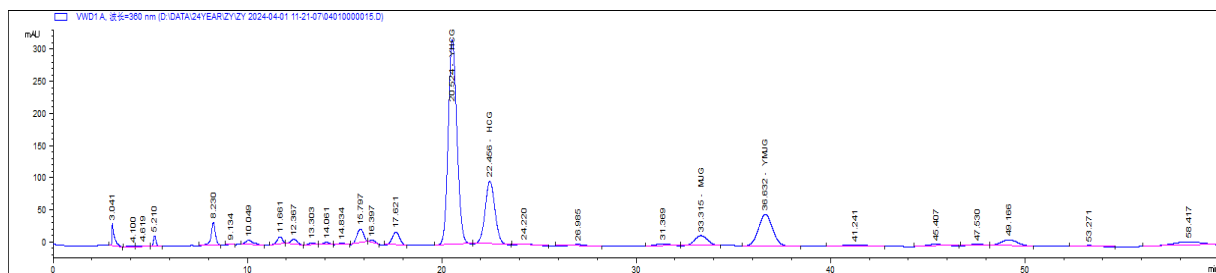


图 21 竹叶提取物（批号：20230302）色谱图

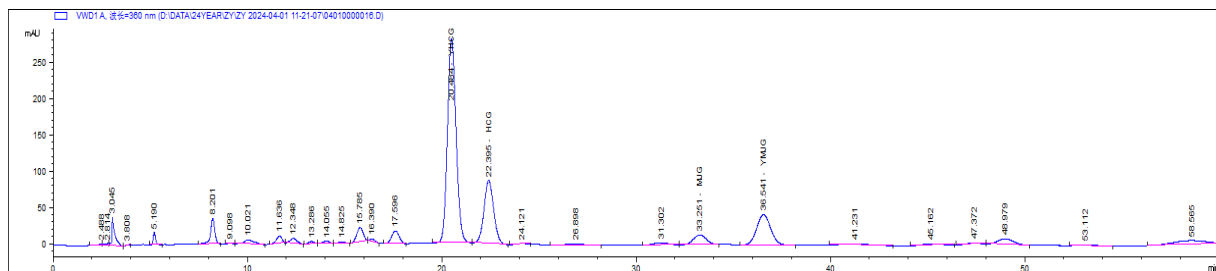


图 22 竹叶提取物（批号：20230701）色谱图

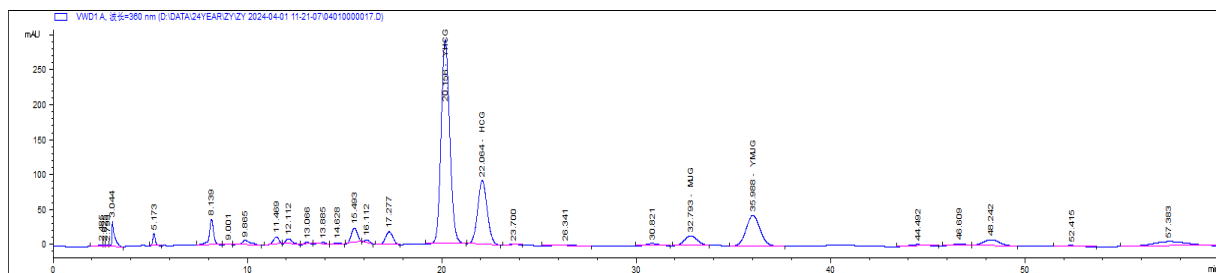


图 23 竹叶提取物（批号：20230502）色谱图

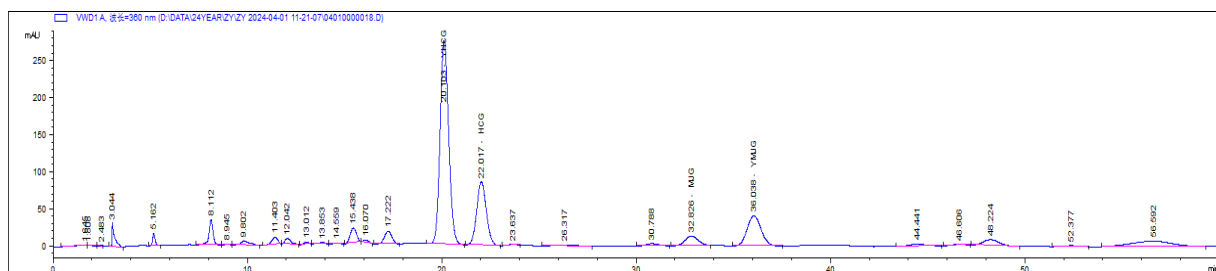


图 24 竹叶提取物（批号：20231001）色谱图

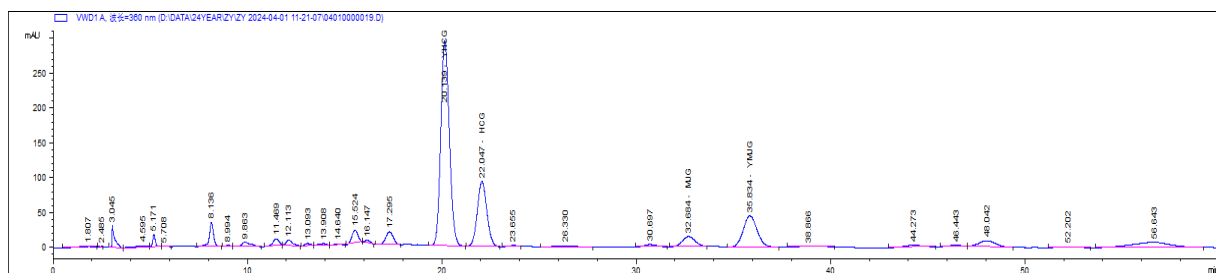


图 25 竹叶提取物（批号：20231101）色谱图

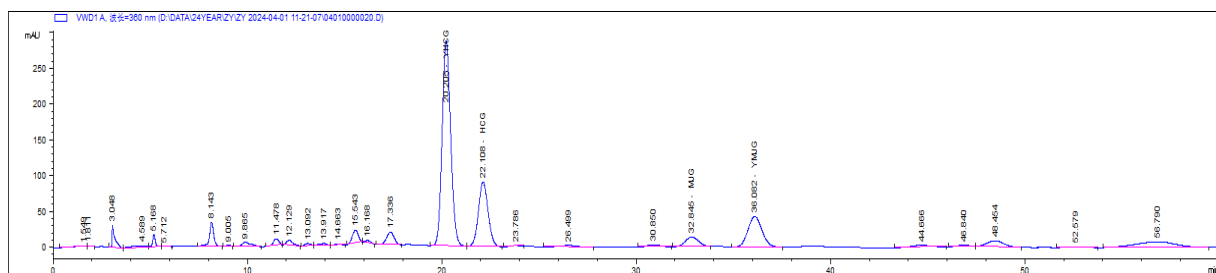


图 26 竹叶提取物（批号：20231201）色谱图

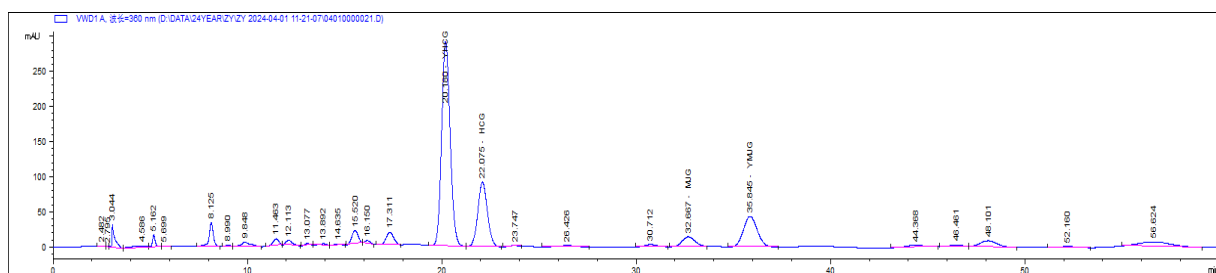


图 27 竹叶提取物（批号：20240220）色谱图

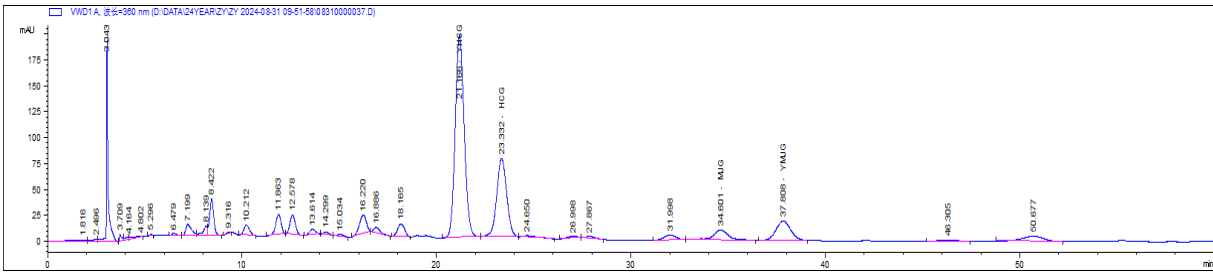


图 28 竹叶提取物（批号：20240701）色谱图

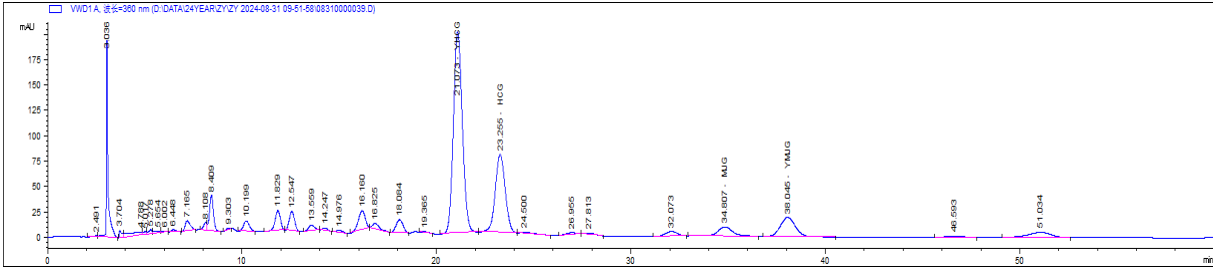


图 29 竹叶提取物（批号：20240702）色谱图

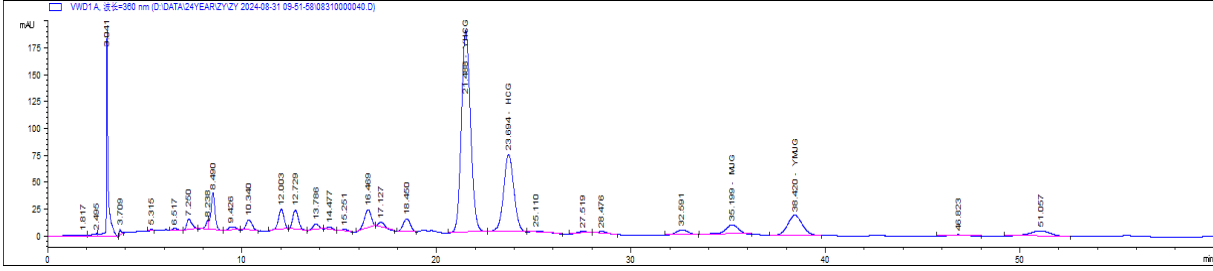


图 30 竹叶提取物（批号：20240703）色谱图

表 38 结果显示，18 批竹叶提取物中异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷含量之和按干燥品计算，均与规格含量相符。因此，将本品含异荭草苷、荭草苷、牡荆苷、异牡荆苷之和按干燥品计算不低于 3.0% 订入本标准。

3.4 粒度的测定

按通则 Y07—粒度和粒度分布测定法（第二法）进行，检测结果见表 39。

表 39 竹叶提取物粒度测定结果

| 样品编号 | 样品来源  | 批号       | 粒度 (%) |
|------|-------|----------|--------|
| 1    | 劲牌持正堂 | 20230501 | 94.7   |
| 2    | 劲牌持正堂 | 20230801 | 93.2   |
| 3    | 劲牌持正堂 | 20230901 | 91.5   |
| 4    | 劲牌持正堂 | 20230902 | 92.4   |
| 5    | 劲牌持正堂 | 20231101 | 91.9   |
| 6    | 劲牌持正堂 | 20240101 | 92.6   |

|    |       |          |      |
|----|-------|----------|------|
| 7  | 湖南金叶  | 20230201 | 93.0 |
| 8  | 湖南金叶  | 20230301 | 95.0 |
| 9  | 湖南金叶  | 20230302 | 93.7 |
| 10 | 湖南金叶  | 20230701 | 94.8 |
| 11 | 浙江圣氏  | 20230502 | 92.9 |
| 12 | 浙江圣氏  | 20231001 | 93.2 |
| 13 | 浙江圣氏  | 20231101 | 92.5 |
| 14 | 浙江圣氏  | 20231201 | 93.7 |
| 15 | 浙江圣氏  | 20240220 | 92.2 |
| 16 | 陕西斯诺特 | 20240701 | 91.9 |
| 17 | 陕西斯诺特 | 20240702 | 92.3 |
| 18 | 湖南南陌  | 20240703 | 92.0 |

表39结果可见，18批竹叶提取物粒度都超过90%。因此，将粒度不低于90.0%订入本标准。

### 3.5 水分的测定

按照通则 G01—水分的测定第一法直接干燥法测定，检测结果见表 40。

表 40 竹叶提取物水分测定结果

| 样品编号 | 样品来源  | 批号       | 水分 (%) |
|------|-------|----------|--------|
| 1    | 劲牌持正堂 | 20230501 | 3.79   |
| 2    | 劲牌持正堂 | 20230801 | 3.31   |
| 3    | 劲牌持正堂 | 20230901 | 3.59   |
| 4    | 劲牌持正堂 | 20230902 | 3.58   |
| 5    | 劲牌持正堂 | 20231101 | 4.04   |
| 6    | 劲牌持正堂 | 20240101 | 2.72   |
| 7    | 湖南金叶  | 20230201 | 1.64   |
| 8    | 湖南金叶  | 20230301 | 2.46   |
| 9    | 湖南金叶  | 20230302 | 2.71   |
| 10   | 湖南金叶  | 20230701 | 3.32   |
| 11   | 浙江圣氏  | 20230502 | 2.97   |
| 12   | 浙江圣氏  | 20231001 | 2.64   |
| 13   | 浙江圣氏  | 20231101 | 2.80   |

|    |       |          |      |
|----|-------|----------|------|
| 14 | 浙江圣氏  | 20231201 | 2.76 |
| 15 | 浙江圣氏  | 20240220 | 2.41 |
| 16 | 陕西斯诺特 | 20240701 | 3.98 |
| 17 | 陕西斯诺特 | 20240702 | 4.11 |
| 18 | 湖南南陌  | 20240703 | 3.32 |

表 40 结果可见，15 批竹叶提取物水分都小于 5.0%。因此，将水分不超过 5.0%订入本标准。

### 3.6 灰分的测定

按通则 G02—灰分的测定规定的方法进行，测定结果见表 41。

表 41 竹叶提取物灰分测定结果

| 样品编号 | 样品来源  | 批号       | 灰分 (%) |
|------|-------|----------|--------|
| 1    | 劲牌持正堂 | 20230501 | 1.65   |
| 2    | 劲牌持正堂 | 20230801 | 2.44   |
| 3    | 劲牌持正堂 | 20230901 | 1.02   |
| 4    | 劲牌持正堂 | 20230902 | 0.90   |
| 5    | 劲牌持正堂 | 20231101 | 1.28   |
| 6    | 劲牌持正堂 | 20240101 | 1.35   |
| 7    | 湖南金叶  | 20230201 | 1.23   |
| 8    | 湖南金叶  | 20230301 | 1.27   |
| 9    | 湖南金叶  | 20230302 | 1.30   |
| 10   | 湖南金叶  | 20230701 | 1.25   |
| 11   | 浙江圣氏  | 20230502 | 1.46   |
| 12   | 浙江圣氏  | 20231001 | 1.48   |
| 13   | 浙江圣氏  | 20231101 | 1.31   |
| 14   | 浙江圣氏  | 20231201 | 1.48   |
| 15   | 浙江圣氏  | 20240220 | 1.36   |
| 16   | 陕西斯诺特 | 20240701 | 2.37   |
| 17   | 陕西斯诺特 | 20240702 | 2.49   |
| 18   | 湖南南陌  | 20240703 | 1.96   |

表 41 果可见，18 批竹叶提取物灰分都小于 5.0%。因此，将灰分不超过 5.0%订入本标准。

### 3.7 铅、砷、镉、汞的测定

按通则 Y12—铅、镉、砷、汞、铜测定法（第二法）规定的方法进行，检测结果见表 42。

表 42 竹叶提取物铅、镉、砷、汞测定结果

| 样品编号 | 样品来源  | 批号       | Pb<br>(mg/kg) | Cd<br>(mg/kg) | As<br>(mg/kg) | Hg<br>(mg/kg) |
|------|-------|----------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1    | 劲牌持正堂 | 20230501 | 1.61          | 0.039         | 0.13          | 0.016         |
| 2    | 劲牌持正堂 | 20230801 | 1.55          | 0.047         | 0.17          | 0.019         |
| 3    | 劲牌持正堂 | 20230901 | 0.92          | 0.034         | 0.07          | 0.011         |
| 4    | 劲牌持正堂 | 20230902 | 1.07          | 0.029         | 0.07          | 0.013         |
| 5    | 劲牌持正堂 | 20231101 | 1.13          | 0.029         | 0.07          | 0.014         |
| 6    | 劲牌持正堂 | 20240101 | 0.39          | 0.010         | 0.40          | 未检出           |
| 7    | 湖南金叶  | 20230201 | 0.39          | 0.011         | 0.41          | 未检出           |
| 8    | 湖南金叶  | 20230301 | 0.39          | 0.010         | 0.41          | 未检出           |
| 9    | 湖南金叶  | 20230302 | 0.39          | 0.011         | 0.43          | 未检出           |
| 10   | 湖南金叶  | 20230701 | 0.80          | 0.017         | 0.57          | 未检出           |
| 11   | 浙江圣氏  | 20230502 | 0.81          | 0.017         | 0.55          | 未检出           |
| 12   | 浙江圣氏  | 20231001 | 0.79          | 0.016         | 0.54          | 未检出           |
| 13   | 浙江圣氏  | 20231101 | 0.80          | 0.016         | 0.53          | 未检出           |
| 14   | 浙江圣氏  | 20231201 | 0.80          | 0.016         | 0.52          | 0.004         |
| 15   | 浙江圣氏  | 20240220 | 0.81          | 0.016         | 0.53          | 未检出           |
| 16   | 陕西斯诺特 | 20240701 | 1.13          | 0.043         | 0.33          | 未检出           |
| 17   | 陕西斯诺特 | 20240702 | 1.09          | 0.047         | 0.29          | 未检出           |
| 18   | 湖南南陌  | 20240703 | 1.33          | 0.033         | 0.37          | 未检出           |

表 42 结果可见，18 批竹叶提取物四个重金属元素的最高含量，铅 $\leq 2.0\text{mg/kg}$ ，镉 $\leq 0.3\text{mg/kg}$ ，砷 $\leq 1.0\text{mg/kg}$ ，汞 $\leq 0.1\text{mg/kg}$ 。因此，将 Pb 不得过  $2.0\text{mg/kg}$ 、Cd 不得过  $0.3\text{mg/kg}$ 、As 不得过  $1.0\text{mg/kg}$ 、Hg 不得过  $0.1\text{mg/kg}$  订入本标准。

3.8 残留溶剂（乙醇）的测定

按通则 Y10—残留溶剂测定法规定的方法进行，测定结果见表 43。

表 43 竹叶提取物乙醇测定结果

| 样品编号 | 样品来源  | 批号       | 乙醇 (mg/kg) |
|------|-------|----------|------------|
| 1    | 劲牌持正堂 | 20230501 | 269.2      |



|    |       |          |       |
|----|-------|----------|-------|
| 2  | 劲牌持正堂 | 20230801 | 255.8 |
| 3  | 劲牌持正堂 | 20230901 | 165.8 |
| 4  | 劲牌持正堂 | 20230902 | 227.1 |
| 5  | 劲牌持正堂 | 20231101 | 150.2 |
| 6  | 劲牌持正堂 | 20240101 | 112.6 |
| 7  | 湖南金叶  | 20230201 | 111.6 |
| 8  | 湖南金叶  | 20230301 | 113.9 |
| 9  | 湖南金叶  | 20230302 | 109.0 |
| 10 | 湖南金叶  | 20230701 | 110.5 |
| 11 | 浙江圣氏  | 20230502 | 112.4 |
| 12 | 浙江圣氏  | 20231001 | 114.9 |
| 13 | 浙江圣氏  | 20231101 | 113.4 |
| 14 | 浙江圣氏  | 20231201 | 112.6 |
| 15 | 浙江圣氏  | 20240220 | 114.4 |
| 16 | 陕西斯诺特 | 20240701 | 211.8 |
| 17 | 陕西斯诺特 | 20240702 | 276.2 |
| 18 | 湖南南陌  | 20240703 | 283.8 |

表 43 结果可见,18 批竹叶提取物乙醇最高含量小于 2000mg/kg。因此,将乙醇不得超过 2000mg/kg 订入本标准。

### 3.9 卫生要求

#### 3.9.1 菌落总数的测定

按通则 G09—菌落总数测定规定的方法进行。

#### 3.9.2 霉菌和酵母的测定

按通则 G14—霉菌和酵母计数规定的方法进行。

#### 3.9.3 大肠埃希氏菌的测定

按通则 G10—大肠埃希氏菌计数规定的方法进行。

#### 3.9.4 沙门氏菌的测定

按通则 G12—沙门氏菌检验规定的方法进行。

菌落总数、霉菌及酵母菌、大肠埃希菌和沙门菌检测结果见表44。

表 44 竹叶提取物微生物测定结果

| 样品编号 | 样品来源  | 批号       | 菌落总数/<br>(cfu/g) | 霉菌及酵母<br>菌/<br>(cfu/g) | 大肠埃希菌 | 沙门氏菌 |
|------|-------|----------|------------------|------------------------|-------|------|
| 1    | 劲牌持正堂 | 20230501 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 2    | 劲牌持正堂 | 20230801 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 3    | 劲牌持正堂 | 20230901 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 4    | 劲牌持正堂 | 20230902 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 5    | 劲牌持正堂 | 20231101 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 6    | 劲牌持正堂 | 20240101 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 7    | 湖南金叶  | 20230201 | <100             | 10                     | 未检出   | 未检出  |
| 8    | 湖南金叶  | 20230301 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 9    | 湖南金叶  | 20230302 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 10   | 湖南金叶  | 20230701 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 11   | 浙江圣氏  | 20230502 | <100             | 10                     | 未检出   | 未检出  |
| 12   | 浙江圣氏  | 20231001 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 13   | 浙江圣氏  | 20231101 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 14   | 浙江圣氏  | 20231201 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 15   | 浙江圣氏  | 20240220 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 16   | 陕西斯诺特 | 20240701 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 17   | 陕西斯诺特 | 20240702 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |
| 18   | 湖南南陌  | 20240703 | <100             | <10                    | 未检出   | 未检出  |

表 44 结果可见,18 批竹叶提取物样品菌落总数均小于 1000 cfu/g、霉菌及酵母菌小于 100 cfu/g、大肠埃希菌和沙门菌未检出。根据市场要求可以将该指标要求订入本标准。