

ICS 71.080.40
CCS G 16

T/ACCEM
团 体 标 准

T/ACCEM XXXX—2025

丹酚酸含量测定 高效液相色谱法

Determination of salvianolic acid content by high performance liquid chromatography

(征求意见稿)

2025-XX-XX 发布

2025-XX-XX 实施

中国商业企业管理协会 发布

目 次

| | |
|------------------|----|
| 前言 | 11 |
| 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 材料 | 1 |
| 5.1 试剂 | 1 |
| 5.2 试药 | 1 |
| 6 仪器设备 | 2 |
| 7 测定步骤 | 2 |
| 7.1 预处理 | 2 |
| 7.2 溶液制备 | 2 |
| 7.3 测定 | 2 |
| 8 结果计算 | 3 |
| 9 精密度 | 3 |
| 10 稳定性 | 3 |
| 10.1 日内稳定性 | 3 |
| 10.2 日间稳定性 | 3 |
| 11 重复性 | 3 |
| 12 加样回收率 | 3 |
| 13 样品含量测定 | 3 |
| 14 测试报告 | 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。

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×××提出。

本文件由中国商业企业管理协会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

丹酚酸含量测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了用高效液相色谱法测定丹酚酸含量的方法。

本文件适用于丹参饮片、丹参提取物及含丹参的中成药制剂中丹酚酸A、丹酚酸B含量的测定，其他相关成分可参照执行。

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 1282 化学试剂 磷酸

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

HG/T 4581 化学试剂 高效液相色谱淋洗液 甲醇

HG/T 4582 化学试剂 高效液相色谱淋洗液 乙腈

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 外标法 external standard method

以对照品的峰面积与浓度建立校准曲线，计算供试品中目标成分含量的方法。

3.2 阴性对照品 negative control

不含丹参药材的样品，用于排除其他成分对测定的干扰。

4 原理

采用高效液相色谱（HPLC）法，以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相，通过梯度洗脱分离丹酚酸成分，紫外检测器在286 nm波长下检测，外标法计算含量。

5 材料

5.1 试剂

应选用下列试剂进行试验：

- a) 符合 HG/T 4581 规定的色谱纯甲醇；
- b) 符合 HG/T 4582 规定的色谱纯乙腈；
- c) 符合 GB/T 1282 规定的分析纯磷酸；
- d) 符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.2 试药

丹参饮片、丹参提取物或含丹参的中成药制剂、丹酚酸A对照品（纯度 $\geq 98\%$ ）、丹酚酸B对照品（纯度 $\geq 98\%$ ）。

6 仪器设备

应采用下列仪器设备进行试验：

- a) 高效液相色谱仪（含四元低压泵、自动进样器、紫外检测器、工作站）；
- b) 色谱柱：C18 色谱柱（长度 250 mm、内径 4.6 mm、粒径 5 μm ）或等效色谱柱；
- c) 电子分析天平；
- d) 超声波清洗仪。

7 测定步骤

7.1 预处理

不同样品基质应按下列规定进行预处理后进行测定：

- a) 固体制剂：应除去包衣或囊壳，研细，取适量样品精密称定，加入甲醇-水（8:2）混合溶液，超声提取后滤过，以去除辅料干扰；
- b) 液体制剂：应取适量样品，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，若存在悬浮颗粒，应先离心取上清液；
- c) 半固体制剂：应精密称取适量样品，加甲醇-水（8:2）混合溶液超声处理 30 min，离心后取上清液滤过；
- d) 注射剂：应精密量取适量，加入甲醇-水（8:2）混合溶液稀释至刻度，摇匀后经 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

7.2 溶液制备

7.2.1 对照品溶液制备

精密称取置五氧化二磷减压干燥器干燥14 h的丹酚酸A、丹酚酸B对照品适量，加甲醇-水（8:2）混合溶液制成每1 mL含50 μg 丹酚酸A、50 μg 丹酚酸B的溶液。

7.2.2 供试品溶液制备

取装量差异项下的内容物，过三号筛研细，取约0.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇-水（8:2）混合溶液50 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率140 W，频率42 kHz）30 min，放冷，再称定重量，用甲醇-水（8:2）混合溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，用0.45 μm 微孔滤膜滤过。

7.2.3 阴性对照品溶液制备

取缺丹参的其他各味中药按处方及制备工艺制成阴性供试样品，按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

7.3 测定

7.3.1 色谱条件

应选用下列色谱条件进行测定：

- a) 色谱柱：C18 柱；
- b) 流动相：0.02%磷酸（A）和含 0.02%磷酸的 80%乙腈（B）；
- c) 检测波长：286 nm；
- d) 流速：1.0 mL/min；
- e) 柱温：40 °C。

注：流速可根据色谱柱规格适当调整。

7.3.2 梯度洗脱程序

梯度洗脱程序应按下列步骤执行：

- a) 进样 0 min~8 min，调节流动相体积比 A:B 为 20:80；
- b) 进样 8 min~20 min，调节流动相体积比 A:B 为 30:70；
- c) 进样 20 min~23 min，调节流动相体积比 A:B 为 20:80。

7.3.3 色谱测定

色谱测定应按下列步骤执行：

- 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L，注入高效液相色谱仪，记录色谱图；
- 按外标法以峰面积计算样品中丹酚酸 A 或丹酚酸 B 的含量。

8 结果计算

供试品中丹酚酸A或丹酚酸B的含量应按外标法以峰面积计算，公式如下：

$$\omega = \frac{A_1 \times C \times V \times D}{A_2 \times m} \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

式中：

- ω ——丹酚酸含量，单位为毫克每克 (mg/g)；
 A_1 ——试品溶液中丹酚酸A (或B) 的峰面积；
 C ——对照品溶液的浓度，单位为微克每毫升 (μ g/mL)；
 V ——供试品溶液定容体积，单位为毫升 (mL)；
 D ——稀释倍数；
 A_2 ——对照品溶液中丹酚酸A (或B) 的峰面积；
 m ——供试品取样量，单位为克 (g)。

9 精密度

取对照品溶液连续进样6次，丹酚酸A和丹酚酸B峰面积的相对标准偏差 (RSD) 不应大于1.0%，表明仪器精密度良好。

10 稳定性

10.1 日内稳定性

取供试品溶液，在室温下放置，分别于0 h、2 h、4 h、8 h、12 h、16 h、20 h、24 h时按“7.3.1”色谱条件测定，各时间点丹酚酸A和丹酚酸B峰面积的RSD不应大于2.0%。表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

10.2 日间稳定性

取供试品溶液，在室温下放置，分别于0天、3天、6天时按“7.3.1”色谱条件测定，各时间点丹酚酸A和丹酚酸B峰面积的RSD不应大于2.0%。表明供试品溶液在室温下放置6天内稳定性良好。

11 重复性

取同一批次样品适量，按“7.2.2”方法平行制备6份供试品溶液，测定丹酚酸A和丹酚酸B含量，6份样品含量的RSD不应大于3%，表明本方法重复性良好。

注：当样品中丹酚酸含量低于0.1 mg/g时，RSD可放宽至5%。

12 加样回收率

精密称取已知含量的样品共9份，各置于10 mL量瓶中，分别加入低、中、高质量的丹酚酸A和B对照品溶液，按“7.2.2”方法制备供试品溶液，再按“7.3.1”下色谱条件进行测定。计算加样回收率，平均回收率应在95.0%~105.0%之间，RSD不应大于3%。

注：若样品中丹酚酸含量低于0.1 mg/g时，RSD可放宽至5%。

13 样品含量测定

取3批样品各适量, 分别按“7.2.2”方法制备供试品溶液, 再按“7.3.1”下色谱条件进行测定, 记录峰面积并计算丹酚酸A、B的含量, RSD不应大于1.5%。

14 测试报告

测试报告应至少包括以下信息内容:

- a) 试样信息;
 - b) 仪器型号;
 - c) 色谱柱规格(品牌、型号、尺寸);
 - d) 梯度洗脱程序;
 - e) 分析结果;
 - f) 与规定的分析步骤的差异;
 - g) 测定中观察到的异常现象;
 - h) 使用的标准编号;
 - i) 检测人员签名;
 - j) 试验日期。
-