

ICS11.120.10

CCS C 23

JAASS

团 体 标 准

T/JAASS 50-2022

金蝉花

Cordyceps cicadae

2022-05-13 发布

2022-05-13 实施

江苏省农学会 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 质量要求	1
5 检验方法	2
6 标签、包装、运输及贮藏	3
7 保质期	3
附录 A（资料性附录）金蝉花外观形态图	4
附录 B（资料性附录）金蝉花显微特征图	5
附录 C（资料性附录）金蝉花中麦角甾醇薄层色谱图	6
附录 D（规范性附录）金蝉花中 6 种核苷类成分含量的测定	7
附录 E（规范性附录）金蝉花中麦角甾醇含量的测定	11
附录 F（规范性附录）金蝉花中甘露醇含量的测定	14
参考文献	16

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》给出的规则编写。

本文件由江苏大学提出。

本文件由江苏省农学会归口。

本文件起草单位：江苏大学、南京市产品质量监督检验院。

本文件主要起草人：欧阳臻、万晶琼、周兆永、何小翠、葛琦、魏渊、王飞轩、朱南。

金蝉花

1 范围

本文件规定了金蝉花的术语和定义、质量要求、检验方法、标签、包装、运输、贮藏、保质期。本文件适用于金蝉花的质量鉴别和检测。

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，其中最新版本（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（NEQ ISO 3696:1987）

SB/T 11039 中药材追溯通用标识规范

SB/T 11182 中药材包装技术规范

《中国药典》2020年版四部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

金蝉花 *Cordyceps cicadae*

麦角菌科真菌大蝉草（*Cordyceps cicadae* Shing）寄生在蝉科昆虫山蝉（*Cicadae flammata* Dist）若虫上的子座及若虫尸体的复合体。在每年6~8月间从土中挖出，除去泥沙，晾干。

4 质量要求

4.1 性状

金蝉花应由虫体与从虫头部长出的真菌孢梗束或子座相连而成。虫体形似蝉蜕，长椭圆形，微弯曲，长3~4 cm，直径1~1.5 cm。表面灰褐色或棕黄色，大部分被有灰白色菌丝。断面白色或黄白色，质松软。头部有数枚树枝状子座体，子座呈细长圆柱形，分枝或不分枝，长2~6 cm，直径0.1~0.4 cm。具有多数细小点状突起，顶端稍膨大，灰褐色或灰白色，质脆易断。气微，味淡。其外观形态见附录A。

4.2 鉴别

4.2.1 显微鉴别

金蝉花粉末为黄棕色或黄白色。菌丝管状，分隔，壁光滑，无色透明，直径2.0~3.0 μm，多弯曲成团，少数平行成束密集排列；气管壁组织呈不规则碎块状，白色，可见整齐条状增厚壁，排列成栅栏状；刚毛黄棕色或黄白色，呈细刺状，多已断裂；体壁碎片黄色或黄棕色，其上着生短粗刚毛，先端锐尖或钝圆，常可见刚毛脱落后形成的圆形毛窝；少数散落的油滴，无色。其显微特征见附录B。

4.2.2 薄层鉴别

取金蝉花粉末 0.5 g，加甲醇 10 mL，超声处理 30 min，滤过，滤液浓缩至 1 mL，作为供试品溶液。另取麦角甾醇对照品适量，加甲醇制成 4 mg/mL 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（2020 年版《中国药典》四部通则 0502 试验，吸取上述两种溶液各 5 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚（60~90℃）-乙酸乙酯-甲酸（5: 1: 0.1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，在 105℃加热至斑点显色清晰，分别在日光和紫外光灯（365 nm）下检视。金蝉花供试品色谱中，在与麦角甾醇对照品色谱相应的位置上，日光下和紫外光下（365nm）显相同颜色的荧光斑点。其薄层色谱特征见附录 C。

4.3 理化指标

金蝉花的理化指标应符合表1的要求。

表 1 理化指标

项目		指标
水分/%	≤	9.00
总灰分/%	≤	10.00
酸不溶性灰分/%	≤	5.00
水溶性浸出物/%	≥	30.00

4.4 含量要求

按干燥品计算，金蝉花的核苷类总量、麦角甾醇及甘露醇含量应符合表2的要求。

表 2 含量要求

项目		指标
核苷类总量 ^a /%	≥	0.20
麦角甾醇（C ₂₈ H ₄₄ O）/%	≥	0.02
甘露醇（C ₆ H ₁₄ O ₆ ）/%	≥	5.00

^a: 核苷类包括腺嘌呤（C₅H₅N₅）、尿苷（C₉H₁₂N₂O₆）、肌苷（C₁₀H₁₂N₄O₅）、鸟苷（C₁₀H₁₃N₅O₅）、腺苷（C₁₀H₁₃N₅O₄）、N⁶-(2-羟乙基)腺苷（C₁₂H₁₇N₅O₅）。

5 检验方法

5.1 薄层鉴别

按2020年版《中国药典》四部通则0502薄层色谱法的规定进行。

5.2 水分

按2020年版《中国药典》四部通则0832水分测定法第二法（烘干法）的规定进行。

5.3 总灰分

按2020年版《中国药典》四部通则2302灰分测定法中总灰分测定法的规定进行。

5.4 酸不溶性灰分

按2020年版《中国药典》四部通则2302灰分测定法中酸不溶性灰分测定法的规定进行。

5.5 水溶性浸出物

按2020年版《中国药典》四部通则2201浸出物测定法中水溶性浸出物测定法项下热浸法的规定进行。

5.6 核苷类成分

按2020年版《中国药典》四部通则0512高效液相色谱法测定，具体方法参照附录D。

5.7 麦角甾醇

按2020年版《中国药典》四部通则0512高效液相色谱法测定，具体方法参照附录E。

5.8 甘露醇

按2020年版《中国药典》四部通则0401紫外-可见分光光度法测定，具体方法参照附录F。

6 标签、包装、运输、贮藏

6.1 标签

销售的产品应具有质量合格证并注明厂名、厂址、产品名称、批号、净含量、生产日期、产品保质期、执行标准编号和必要的使用说明及注意事项。储运图示的标准应符合GB/T 191的有关规定。

6.2 包装

6.2.1 包装按SB/T 11182要求执行。

6.2.2 追溯通用标识按SB/T 11039要求执行。

6.3 运输

运输时，车厢或其它运输工具应保持清洁、干燥，无外来气味和污染物。

6.4 贮藏

产品应贮存在阴凉通风干燥处，不得与有毒有害、有异味的物品混贮。仓库要保持干燥、通风、防潮湿、防霉烂、防鼠虫害、防变质，避免阳光直射。对仓库要定期进行检查，如发现有害虫或霉变现象，应及时处理。

7 保质期

符合上述运输、贮藏条件下，本产品保质期为24个月。

附录 A

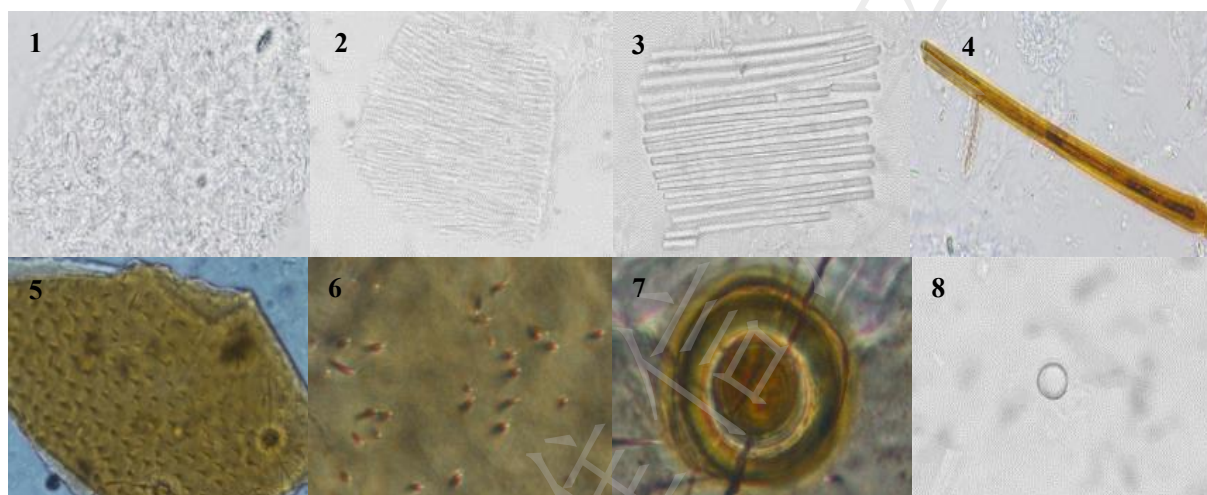
(资料性附录)

金蝉花外观形态图



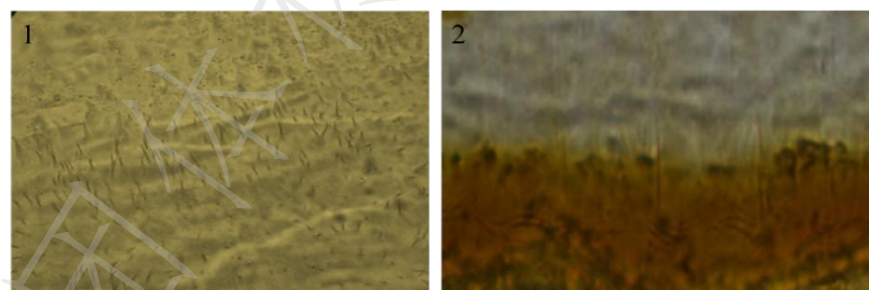
图 A 金蝉花外观形态图

附录 B
(资料性附录)
金蝉花显微特征图



1. 菌丝团；2. 菌丝；3. 气管壁组织；4. 刚毛；5. 体壁碎片；6. 短刚毛；7. 毛窝；8. 油滴

图 B.1 金蝉花粉末显微特征图 (10×40)



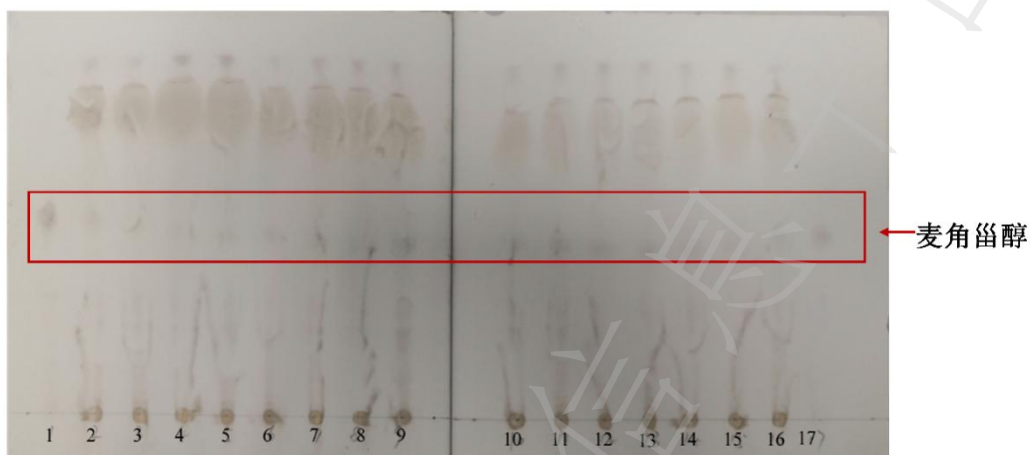
1. 短刚毛；2. 刺状毛

图 B.2 金蝉花表面显微特征图 (10×40)

附录 C

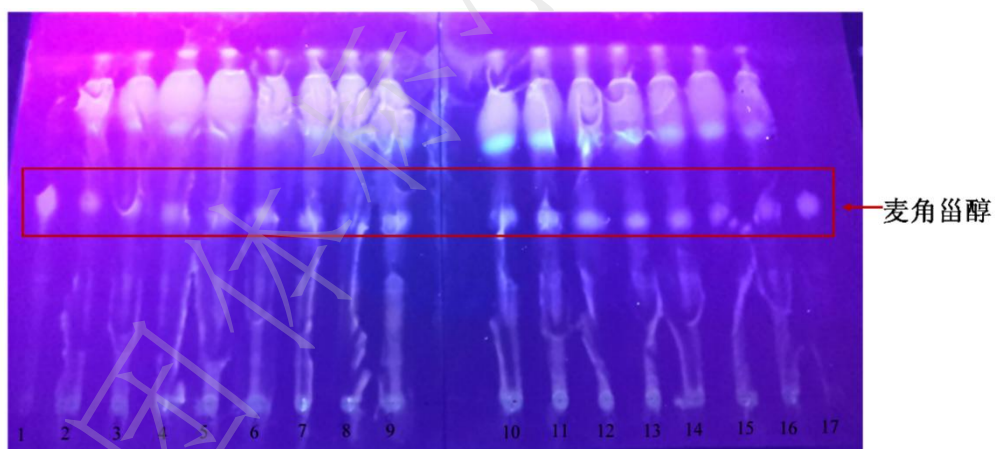
(资料性附录)

金蝉花中麦角甾醇薄层色谱图



1、17. 麦角甾醇对照品；2~16. 样品

图 C.1 日光下的金蝉花麦角甾醇薄层色谱图



1、17. 麦角甾醇对照品；2~16. 样品

图 C.2 紫外光下的金蝉花麦角甾醇薄层色谱图

附录 D

(规范性附录)

金蝉花中 6 种核苷类成分含量的测定

D.1 方法概述

试样经预处理后进行高效液相色谱测定，以保留时间进行定性，外标法定量。

D.2 仪器

D.2.1 高效液相色谱仪。

D.2.2 分析天平：感量0.1 mg。

D.2.3 超声波清洗机：300W，40kHz。

D.2.4 容量瓶：10 mL。

D.3 试剂材料与溶液

除非另有规定，所有试剂均为分析纯，实验用水符合GB/T 6682中规定的二级水要求，色谱用水符合GB/T 6682中规定的一级水要求。

D.3.1 甲醇：色谱纯。

D.3.2 腺嘌呤（ $C_5H_5N_5$ ，CAS：73-24-5）：纯度 $\geq 98\%$ 。

D.3.3 尿苷（ $C_9H_{12}N_2O_6$ ，CAS：58-96-8）：纯度 $\geq 98\%$ 。

D.3.4 肌苷（ $C_{10}H_{12}N_4O_5$ ，CAS：58-63-9）：纯度 $\geq 98\%$ 。

D.3.5 鸟苷（ $C_{10}H_{13}N_5O_5$ ，CAS：118-00-3）：纯度 $\geq 98\%$ 。

D.3.6 腺苷（ $C_{10}H_{13}N_5O_4$ ，CAS：58-61-7）：纯度 $\geq 98\%$ 。

D.3.7 N^6 -(2-羟乙基)腺苷（ $C_{12}H_{17}N_5O_5$ ，CAS：4338-48-1）：纯度 $\geq 98\%$ 。

D.3.8 有机滤膜：0.45 μm 。

D.3.9 混合标准品溶液：腺嘌呤0.12 mg/mL、尿苷1.57 mg/mL、肌苷0.43 mg/mL、鸟苷0.81 mg/mL、腺苷0.92 mg/mL和 N^6 -(2-羟乙基)腺苷0.69 mg/mL。分别称取腺嘌呤、尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和 N^6 -(2-羟乙基)腺苷标准品1.21 mg、15.7 mg、4.3 mg、8.1 mg、9.2 mg、6.9 mg，置于10 mL容量瓶中，加超纯水定容至刻度，溶解摇匀。得混合标准品溶液。

D.4 分析步骤

D.4.1 供试品溶液的制备

称取金蝉花药材粉末（过三号筛）约 0.5 g，置具塞锥形瓶中，加入超纯水 5 mL，密塞，摇匀，超声提取 30 min（20℃以下），过滤，残渣同法再次超声提取 1 次，合并上清液，摇匀，并定容至 10 mL，

过滤膜，取滤液供色谱测定。

D. 4. 2 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：反相色谱柱 C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), ODS3 预柱 (10 mm×4.6 mm, 5 μm) 或相当者；
- b) 流动相：甲醇 (A) -水 (B)；
- c) 流动相洗脱梯度：0~4 min, 100% B; 4~15 min, 5 % A, 95% B; 15~20 min, 10% A, 90% B; 20~30 min, 15% A, 85% B; 30~35 min, 20% A, 80% B; 35~40 min, 20% A, 80% B;
- d) 柱温：25℃；
- e) 流速：1.0 mL/min；
- f) 进样量：10 μL；
- g) 紫外检测波长：260 nm。

D. 4. 3 标准曲线与线性关系

分别精密吸取以上方法制备的混合标准品溶液 0.05mL、0.1mL、0.2mL、0.5mL、1.0mL，置于 1mL 量瓶中，加超纯水稀释至刻度，按 D.4.2 条件进样。记录 5 份溶液中 6 种核苷类成分色谱峰的峰面积。以待测成分质量浓度为横坐标，其峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，计算回归方程。

注：R≥0.999

D. 4. 4 样品测定

按 D.4.1 要求制备金蝉花样品溶液，以制备标准曲线同样条件进样，根据色谱峰保留时间进行定性，以外标峰面积法进行定量。供试品溶液中各核苷类成分响应值在标准曲线范围内，超过线性范围则应稀释后再进样分析。

D. 4. 5 结果计算

根据待测样品色谱峰面积，由标准曲线回归方程式，按干燥品计算样品中单个核苷类成分的含量。金蝉花中 6 种核苷类成分的含量分别按式 (D.4.5.1) 计算，6 种核苷类成分的总量按式 (D.4.5.2) 计算：

$$X_i = \frac{c \times V}{m} \dots \dots \dots (D.4.5.1)$$

$$X = (X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6) \times 10^{-6} \times 100\% \dots \dots \dots (D.4.5.2)$$

式中：

X_i ——金蝉花中单个核苷类成分的含量，单位为微克每克（ $\mu\text{g/g}$ ）；

c ——进样液中腺嘌呤、尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷或 N^6 -（2-羟乙基）腺苷的浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

m ——金蝉花样品的取样量，单位为克（ g ）；

V ——样品的定容体积，单位为毫升（ mL ）；

$X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6$ ——金蝉花中腺嘌呤、尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷或 N^6 -（2-羟乙基）腺苷的含量，单位为微克每克（ $\mu\text{g/g}$ ）；

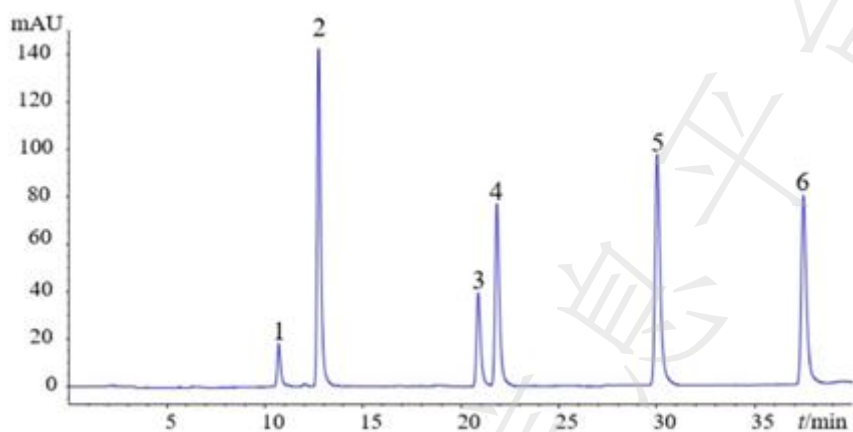
X ——金蝉花中 6 种核苷类成分的总量，单位为%。

D. 4. 6 精密度

D. 4. 6. 1 重复性：在重复条件下获得的两次独立测定结果的相对平均偏差应不超过 3%。

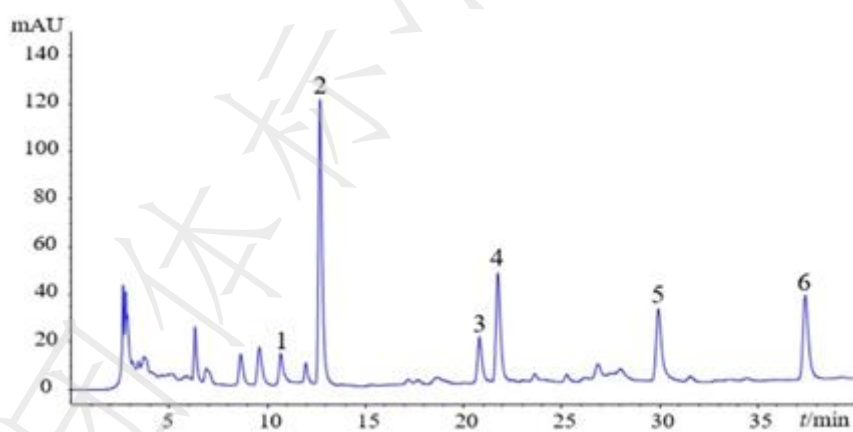
D. 4. 6. 2 再现性：在再现性条件下获得的两次独立测定结果的相对平均偏差应不超过 6%。

金蝉花核苷类成分的高效液相色谱图



1. 腺嘌呤; 2. 尿苷; 3. 肌苷; 4. 鸟苷; 5. 腺苷; 6. N⁶-(2-羟乙基)腺苷

图 D.1 6 种核苷类成分混合对照品色谱图



1. 腺嘌呤; 2. 尿苷; 3. 肌苷; 4. 鸟苷; 5. 腺苷; 6. N⁶-(2-羟乙基)腺苷

图 D.2 6 种核苷类成分金蝉花样品色谱图

附录 E

(规范性附录)

金蝉花中麦角甾醇含量的测定

E.1 方法概述

试样经预处理后进行高效液相色谱测定，以保留时间进行定性，外标法定量。

E.2 仪器

同附录D。

E.3 试剂材料与溶液

除非另有规定，所有试剂均为分析纯，实验用水符合GB/T 6682中规定的二级水要求，色谱用水应符合GB/T 6682中规定的一级水要求。

E.3.1 甲醇：色谱纯；

E.3.2 乙醇：分析纯；

E.3.3 有机滤膜：0.45 μm；

E.3.4 麦角甾醇（CAS号：57-87-4，分子式：C₂₈H₄₄O）：纯度≥98%；

E.3.5 麦角甾醇标准品储备液：麦角甾醇0.372 mg/mL。称取麦角甾醇标准品3.72mg，置于100 mL容量瓶中，加甲醇定容至刻度，溶解摇匀，作为麦角甾醇标准品储备液；

E.3.6 麦角甾醇标准品使用液：麦角甾醇37.20 μg/mL。吸取麦角甾醇标准品储存液1mL，用水稀释至10 mL。

E.4 分析步骤

E.4.1 供试品溶液的制备

称取金蝉花药材粉末（过三号筛）约 0.25 g，置具塞锥形瓶中，加入 88%乙醇 50 mL，密塞，摇匀，75°C水浴回流 40 min，放冷，再次加入 88%乙醇补足至 50mL，过滤膜，取滤液供色谱测定。

E.4.2 液相色谱条件

a) 色谱柱：反相色谱柱 C18（250 mm×4.6 mm，5 μm），ODS3 预柱（10 mm×4.6 mm，5 μm）或相当者；

b) 流动相：100%甲醇；

c) 柱温：25°C；

d) 流速：1.0 mL/min；

e) 进样量：20 μL；

f) 紫外检测波长：283 nm。

E. 4. 3 标准曲线与线性关系

精密吸取适量麦角甾醇标准品使用液，用甲醇依次制成浓度分别为 37.20、18.60、9.30、4.65、2.33、1.16 $\mu\text{g/mL}$ 的 6 份溶液，按 E.4.2 条件进样，记录 6 份溶液的峰面积。以麦角甾醇质量浓度为横坐标，其峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，计算回归方程。

注： $R \geq 0.999$

E. 4. 4 样品测定

按 E.4.1 要求制备金蝉花样品溶液，以制备标准曲线同样条件进样，根据色谱峰保留时间进行定性，以外标峰面积法进行定量。样品与标准品的保留时间的相对偏差应不大于 2%，供试品溶液中麦角甾醇响应值在标准曲线范围内，超过线性范围则应稀释后再进样分析。

E. 4. 5 结果计算

根据待测样品色谱峰面积，由标准曲线回归方程式，按干燥品计算样品中的含量。金蝉花中麦角甾醇的含量按式 (E.4.5.1) 计算：

$$X = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots (E.4.5.1)$$

式中：

X ——金蝉花中麦角甾醇的含量，单位为微克每克 ($\mu\text{g/g}$)；

c ——进样液中麦角甾醇的浓度，单位为微克每毫升 ($\mu\text{g/mL}$)；

m ——金蝉花样品的取样量，单位为克 (g)；

V ——样品的定容体积，单位为毫升 (mL)。

E. 4. 6 精密度

E. 4. 6. 1 重复性：在重复条件下获得的两次独立测定结果的相对平均偏差应不超过 4%。

E. 4. 6. 2 再现性：在再现性条件下获得的两次独立测定结果的相对平均偏差应不超过 8%。

金蝉花中麦角甾醇的高效液相色谱图

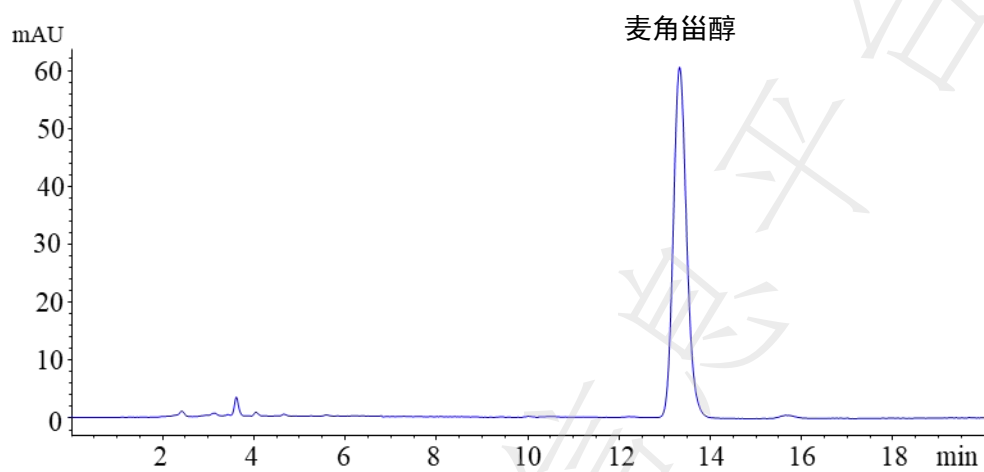
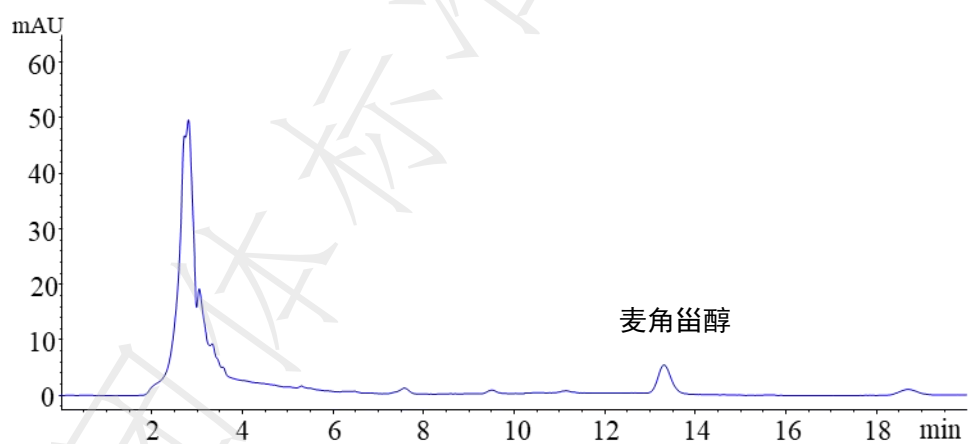


图 E.1 对照品中麦角甾醇色谱图



图E.2 金蝉花样品中麦角甾醇色谱图

附录 F

(规范性附录)

金蝉花中甘露醇含量的测定

F.1 方法概述

甘露醇在酸性溶液中，与过量的高碘酸钾发生反应，反应完全后，剩余的高碘酸钾及其还原产物碘酸钠与过量的碘化钾作用，然后用硫代硫酸钠滴定液滴定析出碘，且用空白试剂校正滴定的结果。进行紫外分光光度计测定，根据标准曲线所得线性方程计算试样中甘露醇含量。

F.2 仪器

F.2.1 紫外分光光度计；

F.2.2 分析天平：感量0.1mg；

F.2.3 超声波清洗机：300W，40kHz；

F.2.4 恒温水浴锅；

F.2.5 容量瓶：20mL；

F.2.6 移液器：1mL。

F.3 试剂与溶液

除非另有规定，所有试剂均为分析纯，实验用水符合GB/T 6682中规定的二级水要求，色谱用水符合GB/T 6682中规定的一级水要求。

F.3.1 甲醇：分析纯。

F.3.2 乙醇：分析纯。

F.3.3 醋酸铵：分析纯。

F.3.4 冰醋酸：分析纯。

F.3.5 乙酰丙酮：分析纯。

F.3.6 高碘酸钾：分析纯。

F.3.7 L-鼠李糖（ $C_6H_{12}O_5$ ，CAS：3615-41-6）：纯度 $\geq 99\%$ 。

F.3.8 甘露醇（ $C_6H_{14}O_6$ ，CAS：69-65-8）：纯度 $\geq 99\%$ 。

F.3.9 甘露醇标准品溶液（1 mg/mL）：称取甘露醇标准品0.020 g，加70%乙醇水溶液定容至20 mL容量瓶中，溶解摇匀，作为甘露醇标准品溶液。

F.3.10 0.1% L-鼠李糖溶液：称取L-鼠李糖0.100 g，加入超纯水溶解并定容至100mL容量瓶中，溶解摇匀。

F. 3. 11 Nash试剂：75 g醋酸铵，1 mL冰醋酸和1 mL乙酰丙酮，用蒸馏水定容至500 mL，溶解摇匀。

F. 4 分析步骤

F. 4. 1 标准曲线的绘制

分别量取1 mg/mL的甘露醇标准品溶液0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL和0.8 mL，加70%乙醇水溶液定容至10 mL容量瓶中。分别移取标准品溶液各1 mL，加高碘酸钾溶液1 mL，混匀后室温静置10 min，加0.1% L-鼠李糖溶液2 mL以除去剩余的高碘酸盐，震荡混匀后加入4 mL现配的Nash试剂，53°C水浴加热15 min使其显色，快速冷却至室温。测定412 nm处的紫外吸光值，以甘露醇浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，计算回归方程。

注：R≥0.999

F. 4. 2 供试品溶液的制备

称取0.1 g金蝉花粉末，加100 mL的 70%乙醇水溶液，85~90°C水浴回流提取，溶液沸腾5 min后取出，过滤，取续滤液冷却至室温，用70%乙醇水溶液定容至100 mL，即为待测样品溶液。

F. 4. 3 样品测定

取样品溶液1.0 mL，标准品测定步骤按F.4.1中的规定进行，测定吸光度。以70%乙醇水溶液代替样品溶液，用相同方法操作作为空白对照。同时做空白试验。

F. 4. 4 结果计算

根据待测样品的吸光度，由标准曲线回归方程式，按干燥品计算样品中的含量。金蝉花中甘露醇的含量按式（F.4.4.1）计算：

$$X = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots (F.4.4.1)$$

式中：

X——金蝉花中甘露醇的含量，单位为毫克每克（mg/g）；

c——待测样品中甘露醇的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

m——金蝉花样品的取样量，单位为克（g）；

V——样品的定容体积，单位为毫升（mL）。

参 考 文 献

- [1]何小翠. 金蝉花质量标准的建立及指纹图谱研究[D]. 江苏大学, 2021.
- [2] 何小翠, 李军, 万晶琼, 朱益灵, 王一姝, 欧阳臻. 金蝉花质量标准研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(05):1143-1146.
- [3] 何小翠, 万晶琼, 朱益灵, 魏渊, 崔恒林, 杨滨, 欧阳臻. 基于ITS序列和化学模式识别方法鉴定金蝉花及其混淆品独角龙[J]. 中国中药杂志, 2021, 47(2):403-411.