

ICS 01.040.67

CCS X 83



中国营养保健食品协会团体标准

T/CNHFA 111.18—2023

保健食品用原料 石斛

Raw Materials for Health Food

Dendrobii Caulis

2023-04-04 发布

2023-04-10 实施

中国营养保健食品协会

发布

目 次

前 言.....	2
1 范围.....	3
2 规范性引用文件.....	3
3 技术要求.....	3
4 贮存.....	8
5 其他.....	8
附录 A.....	9
附录 B.....	11
附录 C.....	14
附录 D.....	16
附录 E.....	18
附录 F.....	21
附录 G.....	25

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。

本文件由中国营养保健食品协会提出并归口。

本文件起草单位：北京中医药大学、中国食品药品检定研究院中药民族药检定所、中国中药协会中药质量与安全专业委员会、深圳市药品检验研究院、中国营养保健食品协会保健食品研发专业委员会。

本文件主要起草人：刘越、马双成、魏锋、王淑红、康帅、聂黎行、王莹、程显隆、汪祺、刘静、杨洋、左甜甜、杨建波、陈佳、王亚丹、荆文光、康荣、石佳、杨洋、关潇滢、谢耀轩、李君瑶、曾利娜、邓少伟。

本文件为首次发布。

保健食品用原料 石斛

1 范围

本文件适用于保健食品用原料石斛。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。下列文件中所包含的部分条款通过相关标准的引用而成为本标准的部分内容。凡是注明日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注明日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改版本）适用于本文件。

GB 2761 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量

GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量

GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

GB 5009.11 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定

GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定

GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定

GB 16740 食品安全国家标准 保健食品

《中华人民共和国药典》一部

《中华人民共和国药典》四部

3 技术要求

3.1 来源

石斛为兰科植物金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl.、霍山石斛 *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng、鼓槌石斛 *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. 或流苏石斛 *Dendrobium fimbriatum* Hook.的栽培品的新鲜或干燥茎。全年均可采收，鲜用者除去根和泥沙；干用者采收后，除去杂质，用开水略烫或烘软，再边搓边烘晒，至叶鞘搓净，干燥。霍山石斛 11月至翌年3月采收，除去叶、根须及泥沙等杂质，洗净，鲜用，或加热除去叶鞘制成干条；或边加热边扭成螺旋状或弹簧状，干燥。

3.2 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	要求	检验方法
色泽	(1) 鲜石斛表面黄绿色 (2) 金钗石斛表面金黄色或黄中带绿色 (3) 霍山石斛表面淡黄绿色至黄绿色，偶有黄褐色斑块。断面灰黄色至灰绿色。鲜品断面淡黄绿色至深绿色 (4) 鼓槌石斛表面金黄色 (5) 流苏石斛表面黄色至暗黄色	在日光下观察颜色；如断面不易观察，可削平后观察
滋味、 气味	(1) 鲜石斛气微，味微苦而回甜，嚼之有黏性 (2) 金钗石斛气微，味苦 (3) 霍山石斛气微，味淡，嚼之有黏性且少有渣 (4) 鼓槌石斛气微，味淡，嚼之有黏性 (5) 流苏石斛味淡或微苦，嚼之有黏性	滋味可取少量直接口尝，或加热水浸泡后尝浸出液；气味可直接嗅闻，或在折断、破碎或搓揉时进行
形态	(1) 鲜石斛呈圆柱形或扁圆柱形，长约 30 cm，直径 0.4~1.2 cm。表面光滑或有纵纹，节明显，色较深，节上有膜质叶鞘。肉质多汁，易折断 (2) 金钗石斛呈扁圆柱形，长 20~40 cm，直径 0.4~0.6 cm，节间长 2.5~3 cm。表面有深纵沟。质硬而脆，断面较平坦而疏松 (3) 霍山石斛干条呈直条状或不规则弯曲形，长 2~8	在日光下观察；长度、宽度及厚度测量时应用毫米刻度尺；质地是指用手折断时的感官感觉

	<p>cm, 直径 1~4 mm。表面有细纵纹, 节明显, 节上有的可见残留的灰白色膜质叶鞘; 一端可见茎基部残留的短须根或须根痕, 另一端为茎尖, 较细。质硬而脆, 易折断, 断面平坦, 略角质状。鲜品稍肥大。肉质, 易折断。枫斗呈螺旋形或弹簧状, 通常为 2~5 个旋纹, 茎拉直后性状同干条</p> <p>(4) 鼓槌石斛呈粗纺锤形, 中部直径 1~3 cm, 具 3~7 节。表面光滑, 有明显凸起的棱。质轻而松脆, 断面海绵状</p> <p>(5) 流苏石斛呈长圆柱形, 长 20~150 cm, 直径 0.4~1.2 cm, 节明显, 节间长 2~6 cm。表面有深纵槽。质疏松, 断面平坦或呈纤维性</p>	
--	--	--

3.3 薄层鉴别

应符合表 2 的规定。

表 2 薄层鉴别

项 目	要 求	检验方法
薄层鉴别 ^a	供试品色谱中, 在与石斛碱对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点	附录 A
薄层鉴别 ^b	供试品色谱中, 在与霍山石斛对照药材和夏佛塔苷对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点	附录 B
薄层鉴别 ^c	供试品色谱中, 在与毛兰素对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点	附录 C
薄层	供试品色谱中, 在与石斛酚对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点	附录 D

鉴别 ^d		
注： ^a 为金钗石斛薄层鉴别、 ^b 为霍山石斛薄层鉴别、 ^c 为鼓槌石斛薄层鉴别、 ^d 为流苏石斛薄层鉴别项		

3.4 特征图谱

应符合表 3 的规定。

表 3 特征图谱

项目	要求	检验方法
特征图谱*	供试品色谱中应呈现 5 个特征峰，并与霍山石斛对照药材参照物色谱峰中的 5 个特征峰保留时间相对应，其中峰 1 应与夏佛塔苷对照品参照物峰保留时间相对应	附录 E
注：*为霍山石斛特征图谱		

3.5 理化指标

应符合表 4 的规定。

表 4 理化指标

项目	指标	检验方法
水分, %	≤ 12.0	《中华人民共和国药典》2020 年版四部 通则 0832 第二法
灰分, %	≤ 5.0	《中华人民共和国药典》2020 年版四部 通则 2302 方法
	≤ 7.0 ^a	
浸出物(乙醇)(以干品计), %	≥ 8.0 ^a	《中华人民共和国药典》2020 年版四部 通则 2201 热浸法(用乙醇作溶剂)
铅(以 Pb 计), mg/kg	≤ 5.0	GB 5009.12

总砷(以 As 计), mg/kg	≤	1.0	GB 5009.11
总汞(以 Hg 计), mg/kg	≤	0.3	GB 5009.17
苯醚甲环唑, mg/kg	≤	1 ^b	GB 2763 规定的方法
		2 ^c	
吡虫啉, mg/kg	≤	2 ^b	
		3 ^c	
井冈霉素, mg/kg	≤	0.1 ^b	
		1 ^c	
喹啉铜, mg/kg	≤	3 ^{b,c}	
咪鲜胺和咪鲜胺锰盐, mg/kg	≤	15 ^{*b}	
		20 ^{*c}	
噻呋酰胺, mg/kg	≤	2 ^b	
		10 ^c	
四聚乙醛, mg/kg	≤	0.2 ^b	
		0.5 ^c	
烯酰吗啉, mg/kg	≤	20 ^{b,c}	
<p>注: ^a 为霍山石斛限度; ^b 为鲜品限度; ^c 为干品限度; *该限量为临时限量; 其他未列污染物限量应符合 GB 2762 相应食品类别(名称)的规定或有关规定; 其他未列农药最大残留限量应符合 GB 2763 相应食品类别/名称的规定或国家有关规定。</p>			

3.6 标志性成分指标

应符合表 5 的规定。

表 5 标志性成分指标

项目	指标	检验方法
^a 石斛碱 (C ₁₆ H ₂₅ NO ₂) (以干燥品计), %	≥ 0.40	附录 F
^b 石斛多糖 (以干燥品计), %	≥ 17.0	附录 G

注: ^a 为金钗石斛标志性成分限度; ^b 霍山石斛标志性成分限度

3.7 真菌毒素限量

真菌毒素限量应符合 GB 2761 中相应食品类别 (名称) 的规定或有关规定。

4 贮存

鲜品置阴凉潮湿处, 防冻。

5 其他

保健食品所用原料为本品的炮制加工品, 其炮制加工前的原料应符合本标准。炮制方法为净制、切制的, 除另有规定外, 炮制加工品应符合本标准。炮制方法为其他炮制工艺的, 炮制加工品应符合相应标准的规定。

附录 A

(规范性附录)

金钗石斛薄层鉴别检验方法

A.1 一般规定

本文件所用试剂在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

A.2 方法提要

本品经甲醇超声提取后,采用薄层色谱法,以石斛碱对照品为对照对样品进行鉴别分析。

A.3 仪器

A.3.1 分析天平:感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

A.3.2 超声波清洗仪。

A.4 试剂和耗材

A.4.1 甲醇。

A.4.2 石油醚(60~90°C)。

A.4.3 丙酮。

A.4.4 碘化铯钾试液。

A.4.5 硅胶 G 薄层板。

A.4.6 对照品

石斛碱对照品(购自中国食品药品检定研究院)或其他等同对照品,其英文名称、CAS 号、分子式和相对分子量见表 A.1。

表 A.1 化学对照品(标准品)信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子量
石斛碱	Dendrobine	2115-91-5	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	263.28

A.5 色谱条件

薄层板：硅胶 G；

点样量：供试品溶液 20 μL ，对照品溶液 5 μL ；

展开剂：石油醚（60~90 $^{\circ}\text{C}$ ）-丙酮（7：3）；

显色剂：碘化铯钾试液。

A.6 操作方法

A.6.1 对照品溶液的制备：

取石斛碱对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，摇匀，作为对照品溶液，备用。

A.6.2 供试品溶液的制备：

取本品（鲜品干燥后粉碎）粉末 1 g，加甲醇 10 mL，超声处理 30 分钟，滤过，作为供试品溶液，备用。

A.6.3 鉴别分析方法：

照薄层色谱法（《中华人民共和国药典》2020 年版 第四部 0502）试验，吸取供试品溶液 20 μL ，对照品溶液 5 μL ，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚（60~90 $^{\circ}\text{C}$ ）-丙酮（7：3）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以碘化铯钾试液，日光下检视。

A.7 结果判别

供试品色谱中，在与石斛碱对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

附录 B

(规范性附录)

霍山石斛薄层鉴别检验方法

B.1 一般规定

本文件所用试剂在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

B.2 方法提要

本品经无水甲醇超声提取,提取物回收溶剂后加水溶解,再经水饱和正丁醇振摇萃取,采用薄层色谱法,以霍山石斛对照药材和夏佛塔昔对照品为对照对样品进行鉴别分析。

B.3 仪器

B.3.1 分析天平:感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

B.3.2 超声波清洗仪。

B.3.3 紫外光灯(附 365 nm 波长)。

B.4 试剂和耗材

B.4.1 无水甲醇。

B.4.2 石油醚(60~90°C)。

B.4.3 乙酸乙酯。

B.4.4 水饱和正丁醇。

B.4.5 乙醇。

B.4.6 丁酮。

B.4.7 乙酰丙酮。

B.4.8 5%三氯化铝乙醇溶液。

B.4.9 聚酰胺薄膜。

B.4.10 对照药材和对照品

霍山石斛对照药材（购自中国食品药品检定研究院）或其他等同对药材。

夏佛塔苷对照品（购自中国食品药品检定研究院）或其他等同对照品，其英文名称、CAS 号、分子式和相对分子量见表 B.1。

表 B.1 化学对照品（标准品）信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子量
夏佛塔苷	Schaftoside	51938-32-0	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	564.49

B.5 色谱条件

薄层板：聚酰胺薄膜；

点样量：3~5 μL；

展开剂：乙醇-丁酮-乙酰丙酮-水（4：4：1：7）；

显色剂：5%三氯化铝乙醇溶液。

B.6 操作方法

B.6.1 对照药材溶液的制备：

取本品（鲜品干燥后粉碎）粉末 1 g，加无水甲醇 20 mL，超声处理 30 min，滤过，滤液回收溶剂至干，残渣加水 15 mL 使溶解，用石油醚（60~90℃）洗涤 2 次，每次 20 mL，弃去石油醚液，水液用乙酸乙酯洗涤 2 次，每次 20 mL，弃去乙酸乙酯液，用水饱和正丁醇振荡提取 2 次，每次 20 mL，合并正丁醇液，回收溶剂至干，残渣加无水甲醇 1 mL 使溶解，摇匀，作为对照药材溶液，备用。

B.6.2 对照品溶液的制备：

取夏佛塔苷对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液，摇匀，作为对照品溶液，备用。

B.6.3 供试品溶液的制备：

按照对照药材溶液制备的方法制备得到供试品溶液，备用。

B.6.4 鉴别分析方法：

照薄层色谱法（《中华人民共和国药典》2020年版 第四部 0502）试验，吸取上述三种溶液各 3~5 μL ，分别点于同一聚酰胺薄膜上，以乙醇-丁酮-乙酰丙酮-水（4：4：1：7）为展开剂，20 $^{\circ}\text{C}$ 以下展开，取出，晾干，在 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘干，取出，喷以 5%三氯化铝乙醇溶液，在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热约 3 min，置紫外灯下（365 nm）检视。

B.7 结果判别

供试品色谱中，在与霍山石斛对照药材和夏佛塔苷对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

附录 C

(规范性附录)

鼓槌石斛薄层鉴别检验方法

C.1 一般规定

本文件所用试剂在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

C.2 方法提要

本品经甲醇超声提取后,采用薄层色谱法,以毛兰素对照品为对照对样品进行鉴别分析。

C.3 仪器

C.3.1 分析天平:感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

C.3.2 超声波清洗仪。

C.4 试剂和耗材

C.4.1 甲醇。

C.4.2 石油醚(60~90°C)。

C.4.3 乙酸乙酯。

C.4.4 10%硫酸乙醇溶液。

C.4.5 硅胶 G 薄层板。

C.4.6 对照品

毛兰素对照品(购自中国食品药品检定研究院)或其他等同对照品,其英文名称、CAS 号、分子式和相对分子量见表 C.1。

表 C.1 化学对照品(标准品)信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子量
毛兰素	Erianin	95041-90-0	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	318.4

C.5 色谱条件

薄层板：硅胶 G；

点样量：供试品溶液 5~10 μL ，对照品溶液 5 μL ；

展开剂：石油醚（60~90 $^{\circ}\text{C}$ ）-乙酸乙酯（3：2）；

显色剂：10%硫酸乙醇溶液。

C.6 操作方法

C.6.1 对照品溶液的制备：

取毛兰素对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液，摇匀，作为对照品溶液，备用。

C.6.2 供试品溶液的制备：

取本品（鲜品干燥后粉碎）粉末约 1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50 mL，密塞，称定重量，浸渍 20 分钟，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）45 min，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，作为供试品溶液，备用。

C.6.3 鉴别分析方法：

照薄层色谱法（《中华人民共和国药典》2020 年版 第四部 0502）试验，吸取供试品溶液 5~10 μL ，对照品溶液 5 μL ，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚（60~90 $^{\circ}\text{C}$ ）-乙酸乙酯（3：2）为展开剂，展开，展距 8 cm，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰，日光下检视。

C.7 结果判别

供试品色谱中，在与毛兰素对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

附录 D

(规范性附录)

流苏石斛薄层鉴别检验方法

D.1 一般规定

本文件所用试剂在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

D.2 方法提要

本品经甲醇超声提取后,采用薄层色谱法,以石斛酚对照品为对照对样品进行鉴别分析。

D.3 仪器

D.3.1 分析天平:感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

D.3.2 超声波清洗仪。

D.4 试剂和耗材

D.4.1 甲醇。

D.4.2 石油醚(60~90°C)。

D.4.3 乙酸乙酯。

D.4.4 10%硫酸乙醇溶液。

D.4.5 硅胶 G 薄层板。

D.4.6 对照品

石斛酚对照品(购自中国食品药品检定研究院)或其他等同对照品,其英文名称、CAS 号、分子式和相对分子量见表 D.1。

表 D.1 化学对照品(标准品)信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子量
石斛酚	Gigantol	83088-28-2	C ₁₆ H ₁₈ O ₄	274.31

D.5 色谱条件

薄层板：硅胶 G；

点样量：供试品溶液 5~10 μL ，对照品溶液 5 μL ；

展开剂：石油醚（60~90 $^{\circ}\text{C}$ ）-乙酸乙酯（3：2）；

显色剂：10%硫酸乙醇溶液；

观测条件：日光下检视。

D.6 操作方法

D.6.1 对照品溶液的制备：

取石斛酚对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液，摇匀，作为对照品溶液，备用。

D.6.2 供试品溶液的制备：

取本品（鲜品干燥后粉碎）粉末约 0.5 g，加甲醇 25 mL，超声处理 45 min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 5 mL 使溶解，作为供试品溶液，备用。

D.6.3 鉴别分析方法：

照薄层色谱法（《中华人民共和国药典》2020 年版 第四部 0502）试验，吸取供试品溶液 5~10 μL ，对照品溶液 5 μL ，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚（60~90 $^{\circ}\text{C}$ ）-乙酸乙酯（3：2）为展开剂，展开，展距 8 cm，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰，日光下检视。

D.7 结果判别

供试品色谱中，在与石斛酚对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

附录 E

(规范性附录)

霍山石斛特征图谱检验方法

E.1 一般规定

本文件所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

E.2 方法提要

本品经甲醇超声提取,采用高效液相色谱法,以霍山石斛对照药材和夏佛塔昔对照品为对照对样品进行特征图谱分析。

E.3 仪器

E.3.1 分析天平:感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

E.3.2 超声波清洗仪。

E.3.3 高效液相色谱仪:配有紫外检测器。

E.4 试剂和耗材

E.4.1 甲醇。

E.4.2 乙腈:色谱纯。

E.4.3 甲醇:色谱纯。

E.4.4 乙酸铵。

E.4.5 水。

E.4.6 0.45 μm 微孔滤膜(有机相)。

E.4.7 对照药材和对照品

霍山石斛对照药材(购自中国食品药品检定研究院)或其他等同对药材。

夏佛塔昔对照品(购自中国食品药品检定研究院)或其他等同对照品,其英文名称、CAS 号、分子式和相对分子量见表 E.1。

表 E.1 化学对照品（标准品）信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子量
夏佛塔昔	Schaftoside	51938-32-0	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	564.49

E.5 色谱条件及系统适用性

E.5.1 色谱条件

色谱柱：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；

流动相：A 相：乙腈-甲醇溶液（1：1）；B 相：0.01 mol/L 乙酸铵溶液，梯度洗脱，梯度程序见表 E.2；

检测波长：340 nm；

进样量：5~20 μL；

柱温：40 °C；

流速：0.8 mL/min。

表 E.2 梯度条件

时间/min	A 相/%	B 相/%
0	14	86
20	18	82
35	22	78
45	26	74
55	30	70

E.5.2 系统适用性

理论板数按夏佛塔昔峰计算应不低于 5000。

E.6 操作方法

E.6.1 参照物溶液的制备

取霍山石斛对照药材约 1 g，加入甲醇 50 mL，超声处理 30 min（功率 250 W，频率 50 kHz），取出，放冷，滤过，滤液浓缩至 5 mL，经 0.45 μm 滤膜（E.4.6）滤过，取续滤液，作为对照药材参照物溶液，备用。另取夏佛塔苷对照品加甲醇制成每 1 mL 含 50 μg 的溶液，摇匀，作为对照品参照物溶液，备用。

E. 6.2 供试品溶液的制备

取供试品（鲜品干燥后粉碎）粉末约 1 g，同对照药材参照物溶液制备方法，制成供试品溶液，备用。

E. 6.3 供试品溶液的测定

照高效液相色谱法（《中华人民共和国药典》2020 年版四部 0512）试验，分别精密吸取上述参照物溶液与供试品溶液各 5~20 μL，注入液相色谱仪，记录色谱图。

E. 7 结果判别

供试品色谱中应呈现 5 个特征峰，应与霍山石斛对照药材参照物色谱峰中的 5 个特征峰保留时间相对应，其中峰 1 应与夏佛塔苷对照品参照物峰保留时间相对应。

附录 F

(规范性附录)

标志性成分石斛碱检验方法

F.1 一般规定

本文件所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

F.2 方法提要

本品经 0.05%甲酸的甲醇溶液回流提取,采用气相色谱法,以石斛碱的峰面积为对照,以萘的峰面积为内标,计算得到校正因子,以内标法测定金钗石斛中石斛碱的含量。

F.3 仪器

F.3.1 分析天平:感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

F.3.2 玻璃回流装置。

F.3.3 电热恒温水浴。

F.3.4 气相色谱仪。

F.4 试剂和耗材

F.4.1 甲醇。

F.4.2 甲酸。

F.4.3 0.45 μm 微孔滤膜(有机相)。

F.4.4 对照药材和对照品

石斛碱对照品(购自中国食品药品检定研究院)或其他等同对照品,其英文名称、CAS 号、分子式和相对分子量见表 F.1。

表 F.1 化学对照品(标准品)信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子量
石斛碱	Dendrobine	2115-91-5	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	263.28

F.5 色谱条件及系统适用性

F.5.1 色谱条件

色谱柱：DB-1 毛细管柱（100%二甲基聚硅氧烷为固定相）（柱长为 30 m，内径为 0.25 mm，膜厚度为 0.25 μm ）；

程序升温：初始温度为 80 $^{\circ}\text{C}$ ，以每分钟 10 $^{\circ}\text{C}$ 的速率升温至 250 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 5 分钟；

进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$ ；

检测器温度：250 $^{\circ}\text{C}$ 。

F.5.2 系统适用性

理论板数按石斛碱峰计算应不低于 10000。

F.6 操作方法

F.6.1 对照品溶液的制备

取石斛碱对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 含 50 μg 的溶液，摇匀，作为对照品溶液，备用。

F.6.2 内标溶液的制备

取萘对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 含 25 μg 的溶液，摇匀，作为内标溶液，备用。

F.6.3 供试品溶液的制备

取鲜品干燥后粉碎，取粉末约 0.25 g，精密称定，置圆底烧瓶中，精密加入 0.05%甲酸的甲醇溶液 25 mL，称定重量，加热回流 3 小时，放冷，再称定重量，用 0.05%甲酸的甲醇溶液补足减失的重量，摇匀，经 0.45 μm 滤膜（F.4.3）滤过，取续滤液，作为供试品溶液，备用。

F.6.4 校正因子的计算

精密量取对照品溶液 2 mL，置 5 mL 量瓶中，精密加入内标溶液 1 mL，加甲醇至刻度，摇匀，吸取 1 μL ，注入气相色谱仪，计算校正因子。

F.6.5 供试品溶液的测定

照气相色谱法（《中华人民共和国药典》2020 年版四部 0521）试验，精密量取供试品

溶液 2 mL，置 5 mL 量瓶中，精密加入内标溶液 1 mL，加甲醇至刻度，摇匀，吸取 1 μ L，注入气相色谱仪，测定。

F.7 测定结果的计算

F.7.1 计算公式

内标法校正因子按公式 (F.1) 计算：

$$f = \frac{A_S/C_S}{A_R/C_R} \dots\dots\dots (F.1)$$

式中：

f ：内标法校正因子；

A_S ：为内标物质的峰面积；

A_R ：为对照品的峰面积；

C_S ：为内标物质的浓度；

C_R ：为对照品的浓度。

金钆石斛中石斛碱的含量以质量分数计，数值以%表示，按公式 (F.2) 计算：

$$W = \frac{A_X \times C'_S \times V}{A'_S \times m \times 10^3} \times f \times 100\% \dots\dots\dots (F.2)$$

式中：

W ：供试品中石斛碱的质量分数 (%)

A_X ：供试品待测成分的峰面积；

A'_S ：内标物质的峰面积；

C'_S ：内标物质的浓度 (mg/mL)；

m ：供试品的称样量 (g)；

V ：供试品溶液的稀释体积 (mL)；

f ：内标法校正因子。

F.7.2 重复性

每个试样取两个平行样进行测定，以算数平均值为测定结果，小数点后保留 2 位。在重复条件下两次独立测定的结果绝对差值不得超过算数平均值的 10%。

全国团体标准信息平台

附录 G

(规范性附录)

标志性成分石斛多糖检验方法

G.1 一般规定

本文件所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。实验中所用的溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

G.2 方法提要

本品使用水提醇沉方法提取石斛中的多糖成分。多糖在硫酸作用下先水解成单糖,并迅速脱水生成糖醛衍生物,然后和苯酚缩合成有色化合物,用紫外分光光度法于适当波长处对其吸光度值进行测定,最终以无水葡萄糖为对照品,采用标准曲线法计算石斛多糖的含量。

霍山石斛多糖含量以无水葡萄糖 ($C_6H_{12}O_6$) 含量计。

G.3 仪器

G.3.1 分析天平:感量为 0.01 mg 和 0.0001 g。

G.3.2 分光光度计,用 10 mm 比色杯,在 488 nm 下测吸光度。

G.3.3 玻璃回流装置。

G.3.4 电热恒温水浴。

G.4 试剂和耗材

G.4.1 5%苯酚溶液:取苯酚 5 g,加水 100 mL,置于棕色瓶中,摇匀,即得。

G.4.2 硫酸。

G.4.3 80%乙醇溶液:用 95%或无水乙醇加适量水配制。

G.4.4 对照品

无水葡萄糖对照品(购自中国食品药品检定研究院)或其他等同对照品,其英文名称、CAS 号、分子式和相对分子量见表 G.1。

表 G.1 化学对照品(标准品)信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子量
D-无水葡萄糖	D-Glucose Anhydrous	50-99-7	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.16

G.5 操作方法

G.5.1 对照品溶液的制备

取无水葡萄糖对照品适量，精密称定，加水制成每 1mL 含 0.10 mg 的溶液，即得。

G.5.2 标准曲线的制备

精密量取对照品溶液 0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL，分别置 10 mL 具塞试管中，各加水至 1.0 mL，各精密加入 5%苯酚溶液（G.4.1）1 mL，摇匀，再精密加入硫酸 5 mL，摇匀，置沸水浴中加热 20 min，取出，置冰浴中冷却 5 min，以相应试剂为空白，照紫外-可见分光光度法（《中华人民共和国药典》2020 年版四部 0401），在 488 nm 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。

G.5.3 供试品溶液的制备

取供试品粉碎，取粉末约 0.4 g，精密称定，加水 200 mL，加热回流 2 小时，放冷，转移至 250 mL 量瓶中，用少量水分次洗涤容器，洗液并入同一量瓶中，加水至刻度，摇匀，滤过。精密量取续滤液 2 mL，置 15 mL 离心管中，精密加入无水乙醇 10 mL，摇匀，冷藏 1 小时，取出，离心（转速为每分钟 4000 转）20 min，弃去上清液，沉淀加 80%乙醇（G.4.3）洗涤 2 次，每次 8 mL，离心，弃去上清液，沉淀加热水溶解，转移至 25 mL 量瓶中，放冷，加水至刻度，摇匀，即得。

G.5.4 供试品溶液的测定

精密量取供试品溶液 1 mL，置 10 mL 具塞试管中，照标准曲线的制备项下的方法，自“精密加入 5%苯酚溶液 1 mL”起，依法测定吸光度，从标准曲线上读出供试品溶液中 D-无水葡萄糖的重量（mg），计算，即得。

G.6 测定结果的计算

G.6.1 计算公式

石斛中多糖含量以质量分数计，数值以%表示，按公式（G.1）计算：

$$W = \frac{m_1 \times V_1}{m_2 \times V_2 \times 10^3} \times 100\% \dots\dots\dots (G.1)$$

式中：

W ：供试品中石斛多糖的质量分数，%；

m_1 ：从标准曲线上读出供试品溶液中 D-无水葡萄糖的重量（mg）；

V_1 ：供试品溶液的稀释体积（mL）；

m_2 ：供试品的称样量（g）；

V_2 ：比色测定时所移取供试品测定溶液的体积（mL）。

G.6.2 重复性

每个试样取两个平行样进行测定，以算数平均值为测定结果，小数点后保留 1 位。在重复条件下两次独立测定的结果绝对差值不得超过算数平均值的 10%。
