

ICS 67.050

CCS X83

# 团 体 标 准

T/GDFDTAEC 06-2022

## 灵芝类保健食品中总三萜的测定 —分光光度法

Determination of total triterpenoids in Ganoderma lucidum health food  
by Spectrophotometry

2022-07-06 发布

2022-07-06 实施

广东省食品药品审评认证技术协会 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》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。

本文件由广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、广州汇标检测技术中心提出。

本文件由广东省食品药品审评认证技术协会归口。

本文件起草单位：广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、汤臣倍健股份有限公司、广东粤微食用菌技术有限公司、华测检测认证集团股份有限公司、广州金至检测技术有限公司、纽斯葆广赛（广东）生物科技股份有限公司、无限极(中国)有限公司、广州汇标检测技术中心、广东林中宝生物科技股份有限公司。

本文件主要起草人：周漪波、王志强、王李平、杨群华、郝燕娟、孙红梅、黄照荣、李美珍、魏鲜娥、杨祖伟、朱桂芳、李丹、王晶、梁咏瑜、罗功才、曾佳艳、焦春伟、李洁仪、廖明凯、唐静、徐阳纯、李雪莹、黎文芳、陈若茵、刘伟德。

本文件为首次发布。

# 灵芝类保健食品中总三萜的测定-分光光度法

## 1 范围

本文件规定了灵芝类保健食品中总三萜的测定方法。

本文件适用于灵芝子实体、灵芝孢子粉（破壁）、灵芝孢子油中灵芝总三萜含量的测定。

## 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试验方法

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

灵芝及其制品中三萜类物质在高氯酸作用下和香草醛反应生成有色物质，以齐墩果酸为对照品，在一定的浓度范围内，其吸光度与化合物含量符合朗伯比尔定律，可测定试样中总三萜的含量。

## 5 试剂和材料

除非另有规定，本文件所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

### 5.1 试剂

5.1.1 高氯酸。

5.1.2 冰乙酸。

5.1.3 无水乙醇。

5.1.4 乙酸乙酯。

### 5.2 溶液配制

5%香草醛-冰乙酸溶液：准确称取香草醛 0.5 g 于 10 mL 容量瓶中，加冰乙酸溶解并定容至刻度线。此溶液需现配现用。

### 5.3 标准品

齐墩果酸：CAS number:508-02-1。

### 5.4 标准品溶液配制

取齐墩果酸标准品约 10.0 mg，精密称定，置 100 mL 容量瓶中，用无水乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀，制成药 0.1 mg/mL 的齐墩果酸标准品储备液。

## 6 仪器设备

- 6.1 可见分光光度计。
- 6.2 水浴锅。
- 6.3 干燥箱。
- 6.4 高速粉碎机。
- 6.5 分析天平：精密度 0.0001 g、0.00001 g。
- 6.6 超声提取器：超声功率 $\geq$ 200 w。

## 7 试验步骤

### 7.1 试样提取

#### 7.1.1 灵芝子实体

取试样于高速粉碎机中粉碎过筛（孔径为 2.8 mm/7 目筛），将过筛后试样于  $103\pm 2^{\circ}\text{C}$  烘箱烘干至恒重。准确称取制备试样 1.0 g（或含待测组分约 15 mg-25 mg），置于 150 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 50 mL 无水乙醇，称重（精确至 0.01 g），至超声提取器中常温超声（功率 200 W，频率 40 kHz）提取 30 min，取出冷却至室温，加无水乙醇补充损失的重量，摇匀。过滤后备用。

#### 7.1.2 灵芝孢子粉

称取试样（胶囊制剂取 20-30 粒内容物混合均匀）0.1-1.0 g（或含待测组分约 15 mg-25 mg），置于 50 mL 容量瓶中，加入约 30 mL 无水乙醇至超声提取器中常温超声（功率 200 W，频率 40 kHz）提取 30 min，取出冷却至室温，加无水乙醇至刻度，摇匀。过滤后备用。

#### 7.1.3 灵芝孢子油

称取试样（胶囊制剂取 10-20 粒内容物混合均匀）0.1-0.5 g（或含待测组分约 30 mg-50 mg），置于 100 mL 容量瓶中，加入乙酸乙酯 70 mL 至超声提取器中常温超声（功率 200 W，频率 40 kHz）20 min，取出冷却至室温，加乙酸乙酯至刻度，摇匀，备用。

## 7.2 测定

### 7.2.1 仪器条件

7.2.1.1 测定波长：546 nm。

7.2.1.2 比色皿：1 cm。

### 7.2.2 标准曲线制备

吸取齐墩果酸储备液（5.4）0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL、1.20 mL（齐墩果酸含量分别为 0 μg、20 μg、40 μg、60 μg、80 μg、100 μg、120 μg）于具塞比色管中，水浴蒸干溶剂。加入新配制的 5%香草醛-冰乙酸溶液 0.20 mL 和高氯酸 0.80 mL，轻轻振荡。于 70±1 °C 水浴加热 15 min，取出，立即置冰水冷却 5 min，后稳定至室温。用移液管准确移取冰乙酸 5.00 mL 稀释，摇匀。以试剂空白作参比，在 30 min 内用可见分光光度计在 546 nm 处测其吸光度值 A。以吸光度 A 为纵坐标，以齐墩果酸的质量(μg)为横坐标，绘制标准曲线，求出直线回归方程并计算相关系数。

### 7.2.3 试样溶液的测定

取 0.20 mL 供试液于具塞比色管，水浴蒸干溶剂。分别加入 0.20 mL 5%香草醛-冰乙酸溶液和 0.80 mL 高氯酸，轻轻振荡，于 70±1 °C 水浴加热 15 min，取出，立即置冰水冷却 5 min，后稳定至室温。用移液管准确移取冰乙酸 5.00 mL 稀释，摇匀。以试剂空白作参比，在 30 min 内用可见分光光度计在 546 nm 处测其吸光度 A。通过线性回归方程计算得到供试液中总三萜的质量。

## 8 结果计算

试样中总三萜的含量按式（1）计算：

$$X = \frac{m_2 \times V_1}{m_1 \times V_2 \times 1000000} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X——试样中总三萜的含量（以齐墩果酸计），单位为克每百克（g/100g）；

m<sub>1</sub>——试样的质量，单位为克（g）；

V<sub>1</sub>——样品溶液定容的体积，单位为毫升（mL）；

m<sub>2</sub>——由标准曲线计算得出的待测液中总三萜的质量，单位为微克（μg）；

V<sub>2</sub>——测定用的样液体积，单位为毫升（mL）。

所得结果保留三位有效数字。

## 9 精密度

### 9.1 重复性

在重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

### 9.2 再现性

在再现性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。