

团 体 标 准

T/FJJX ××××-2022

灵芝提取物中三萜及甾醇的测定 高效液相色谱法

Determination of triterpenoids and sterols in Ganoderma lucidum extract
by HPLC
(征求意见稿)

2022-XX-XX 发布

2022-XX-XX 实施

福建省食用菌行业协会 发布

目 次

前 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 原理	1
4 试剂和材料	1
5 仪器	1
6 分析步骤	1
7 结果计算	2
8 精密度	3

前 言

本文件编写格式要求按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》组织编写。

本文件由福建省食用菌行业协会提出并负责组织制定。

本文件主要起草单位：福建仙芝楼生物科技有限公司、仙芝科技（福建）股份有限公司

本文件起草人：陈言枳、吴长辉、杨娟娟、叶之荫、江铃榕、周岩飞

灵芝及其相关产品中 β -葡聚糖的测定

1 范围

本标准规定了灵芝提取物中三萜及甾醇的检测方法。

本标准适用于多孔菌科真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss.exFr.) Karst.、紫芝 (*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang) 或松杉灵芝 (*Ganoderma tsugae*) 的干燥子实体, 经提取、浓缩、干燥(添加或不添加辅料)、粉碎等工艺制成的灵芝提取物。

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实验方法

3 原理

试样品灵芝三萜、麦角甾醇经甲醇提取, 反相液相色谱-紫外检测器测定, 以保留时间进行定性, 外标定量。

4 试剂和材料

除非另有说明, 在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合GB/T 6682的蒸馏水

4.1 乙腈(C_2H_3N), 色谱纯。

4.2 灵芝醇 A(纯度>95%)。

4.3 甲醇, 分析纯。

4.4 甲酸, 分析纯。

4.5 灵芝醇 A 标准溶液: 准确称取灵芝醇 A(1.1.2)标准品 5 mg(按实际含量折算), 用甲醇溶解定容至 100mL, 摇匀。该标准储备液中灵芝醇 A 的浓度均为 50 μ g/mL, 4℃冰箱保存, 有效期 1 个月。

5 仪器

5.1 高效液相色谱仪, 配有紫外检测器或者二极管阵列检测器。

5.2 超声波清洗器, 功率大于 450 W, 频率 50 Hz~100 Hz。

5.3 分析天平, 感量 0.0001g。

5.4 微孔滤膜, 0.45 μ m, 有机相。

6 分析步骤

6.1 试样制备：称取样品 0.5g(M, 精确至 0.0001g)于 50 mL (V) 容量瓶中，加入甲醇适量，置于超声波仪中超声提取 30min，取出冷却后用甲醇定容至刻度，摇匀，用 0.45 μm 微孔滤膜 (1.2.4)过滤，滤液供高效液相色谱法分析。

6.2 液相色谱条件

6.2.1 色谱柱：C18 柱，250 mm×4.6 mm，5 μm，或相当规格色谱柱。

6.2.2 流动相：乙腈，0.04%甲酸溶液，用前过 0.45 μm 滤膜，脱气。

时间	乙腈 (A)	0.04%甲酸溶液 (B)
0~30	50→65	50→35
30~65	65→100	35→0
79	100	0
79~80	100→50	0→50
95	50	50

6.2.3 流速：1.0mL/min。

6.2.4 柱温：35℃。

6.2.5 波长：254nm。

6.2.6 进样量：20 μL。

6.3 测定

分别精密吸取标准品和供试品溶液各 20 μL，注入液相色谱仪，测定，即得。以灵芝醇 A 为对照计算样品中灵芝醇 A 的含量(1)，再以样品中的灵芝醇 A 为内标分别计算灵芝酮二醇、灵芝醛 A 和麦角甾醇含量(2)。灵芝酮二醇、灵芝醛 A 和麦角甾醇相对保留时间应在规定值 5%内，即得。相对保留时间、校正因子见下表：

待测成分	相对保留时间	校正因子
灵芝酮二醇	0.73	0.98
灵芝醇 A	1	
灵芝醛 A	1.10	1.58
麦角甾醇	1.31	1.27

7 结果计算

$$W_1 = \frac{A_1 \times c \times V}{A_2 \times M} \times \frac{100}{1000000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

W_1 ——灵芝醇 A 的含量，g/100g

A_1 ——试样中灵芝醇 A 的峰面积；

A_2 ——标准品灵芝醇 A 的峰面积；

C ——标准品灵芝醇 A 浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；

V ——试样液最终定容体积，单位为毫升(mL)；

M ——试样的质量，单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字。

$$W_2 = f \times \frac{A \times c_1 \times V}{A_1 \times M} \times \frac{100}{1000000} \dots\dots\dots(2)$$

W_2 ——灵芝酮二醇、灵芝醛 A 和麦角甾醇含量，g/100g；

f ——校正因子；

A_1 ——试样中灵芝醇 A 的峰面积；

A ——灵芝酮二醇、灵芝醛 A 和麦角甾醇的峰面积；

c_1 ——样品中灵芝醇 A 浓度，单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；

V ——试样液最终定容体积，单位为毫升(mL)；

M ——试样的质量，单位为克(g)。

分别计算灵芝酮二醇、灵芝醛 A 和麦角甾醇的含量。

计算结果保留两位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值不得超过算术平均值的10%