

团 体 标 准

T/FJJX ××××-2022

灵芝及其相关产品中 β -葡聚糖的测定

Determinantion of β -glucan of Ganoderma fruiting body and spore powder and
fruiting body dry extract

(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 术语和定义 1

4 原理 1

5 试剂和材料 1

6 仪器 2

7 分析步骤 2

8 结果计算 3

9 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：周岩飞、吴长辉、杨娟娟、吴惠媛、叶之荫、陈言桢、林真

灵芝及其相关产品中 β -葡聚糖的测定

1 范围

本标准规定了灵芝及其相关产品中 β -葡聚糖的检测方法。

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、孢子粉和干燥子实体经提取、浓缩、干燥(添加或不添加辅料)、粉碎等工艺制成的提取物。

本标准不适用于添加 β -环糊精等以 β -葡聚糖形式添加的水溶性成分的原料。

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 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准

3.1

β -葡聚糖 β -glucan

以 β -D-葡聚糖为主链,可溶于水的一系列高分子化合物

4 原理

灵芝子实体、灵芝孢子粉和灵芝提取物中的 β -D-葡聚糖和 α -D-葡聚糖经水提取,使用 α -淀粉酶和葡糖淀粉酶(糖化酶,淀粉葡萄糖苷酶)酶解 α -D-葡聚糖成单糖和寡糖;乙醇醇沉沉淀 β -D-葡聚糖,单糖和寡糖溶于乙醇被除去; β -D-葡聚糖经水溶解,在硫酸作用下,先水解成单糖,并迅速脱水形成糖醛化合物,与蒽酮形成深绿色化合物,在625 nm下具有特征吸收,与标准系列比较定量。

5 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

5.1 硫酸(H_2SO_4), $\rho = 1.84\text{ g/mL}$ 。

5.2 无水乙醇(C_2H_6O)。

5.3 蒽酮($C_{14}H_{10}O$)。

- 5.4 盐酸(HCl)。
- 5.5 无水葡萄糖对照品(C₆H₁₂O₆)。
- 5.6 中温 α -淀粉酶(4000 U/g)。
- 5.7 糖化酶(10000 U/g)。
- 5.8 0.1%蒽酮溶液：精密称取蒽酮(5.3) 0.1 g，加硫酸溶液(5.1) 100 mL使溶解，摇匀，置于棕色瓶中即得。
- 5.9 0.12 mg/mL葡萄糖对照品溶液：精密称取12 mg无水葡萄糖对照品(5.5)于100 mL烧杯，加水溶解，转移至100 mL量瓶，定容，摇匀，置于4℃冰箱中贮存。

6 仪器

- 6.1 可见分光光度计。
- 6.2 分析天平，感量为0.0001g和0.000001g。
- 6.3 电热恒温水浴锅。
- 6.4 冰箱。
- 6.5 离心机，4000r/min。
- 6.6 漩涡混合震荡器。

7 分析步骤

7.1 样品的提取

7.1.1 灵芝子实体

取样品约2.0 g (*M*)，精密称定，置于圆底烧瓶中，加水60 mL，静置1 h，加热回流提取4 h，趁热滤过，少量热水洗涤滤器和滤渣，将渣和滤纸置于烧瓶中，加水60 mL，置水浴中加热回流提取3 h，趁热滤过，合并滤液，置于水浴锅上蒸干，残渣用25 mL (*V*₁)水溶解，转移至50 mL离心管，加入30 mg中温 α -淀粉酶，55℃水浴，酶解1 h，用滴管滴入1滴(约0.02 mL) 0.1 mol/L盐酸，加入30 mg糖化酶，55℃水浴，酶解1 h，离心，4000 r/min，10 min，取5 mL (*V*₂)上清液转移至三角烧瓶，边搅拌边缓慢滴加无水乙醇75 mL，摇匀，在4℃放置12 h，离心，4000 r/min，10 min，弃去上清液，沉淀物用25 mL无水乙醇洗涤，4000 r/min，10 min，沉淀物用热水溶解并转移至50 mL (*V*₃)量瓶中，放冷，加水至刻度，摇匀，取溶液适量，离心，即得。

7.1.2 灵芝孢子粉

取样品约2.0 g (*M*)，精密称定，置于圆底烧瓶中，加水60 mL，静置1 h，加热回流提取4 h，趁热滤过，少量热水洗涤滤器和滤渣，将渣和滤纸置于烧瓶中，加水60 mL，置水浴中加热回流提取3 h，趁热滤过，合并滤液，置于水浴锅上蒸干，残渣用25 mL (*V*₁)水溶解，转移至50 mL离心管，加入30 mg中温 α -淀粉酶，55℃水浴，酶解1 h，用滴管滴入1滴(约0.02 mL) 0.1 mol/L盐酸，加入30 mg糖化酶，55℃水浴，酶解1 h，离心，4000 r/min，10 min，取5 mL (*V*₂)上清液转移至三角烧瓶，边搅拌边缓慢滴加无水乙醇75 mL，摇匀，在4℃放置12 h，离心，4000 r/min，10 min，弃去上清液，沉淀物用25 mL无水乙醇洗涤，4000 r/min，10 min，沉淀物用热水溶解并转移至100 mL (*V*₃)量瓶中，放冷，加水至刻度，摇匀，取溶液适量，离心，即得。

7.1.3 灵芝提取物

取样品约0.5g (M)，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入水100 mL (V_1)，称定重量，置水浴中加热回流提取2小时，放冷，再称定重量，用水补足减失的重量，摇匀，取适量离心，4000 r/min，10 min，取上清液过滤，将25 mL滤液转移至50 mL离心管，加入30 mg中温 α -淀粉酶，55 °C水浴，酶解1 h，用滴管滴入1滴（约0.02 mL）0.1 mol/L盐酸，加入30 mg糖化酶，55 °C水浴，酶解1 h，离心，4000 r/min，10 min，取5 mL (V_2) 上清液转移至三角烧瓶，边搅拌边缓慢滴加无水乙醇75 mL，摇匀，在4 °C放置12 h，离心，4000 r/min，10 min，弃去上清液，沉淀物用25 mL无水乙醇洗涤，离心，4000 r/min，10 min，沉淀物用热水溶解并转移至100 mL (V_3) 量瓶中，放冷，加水至刻度，摇匀，取溶液适量，离心，即得。

7.2 标准曲线

精密量取对照品溶液 0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL、1.2 mL，分别置 15 mL 的具塞试管中，各加水至 2.0 mL，迅速精密加入硫酸蒽酮溶液 6 mL，立即摇匀，放置 15 min 后，立即置冰浴中冷却 15 min，取出，以相应的试剂为空白，在 625 nm 波长处测定吸光度，以吸光度为纵坐标，以无水葡萄糖质量为横坐标，绘制标准曲线。

7.3 测定

精密量取供试品溶液 2 mL (V_4)，置 15 mL 具塞试管中，照标准曲线制备项下的方法，自“迅速精密加入加入硫酸蒽酮溶液 6 mL”起，同法操作，测定吸光度，从标准曲线上读出供试品溶液中无水葡萄糖的质量 W_1 ，计算即得。

8 结果计算

$$X = \frac{(W_1 - W_2) \times \frac{V_1}{V_2} \times \frac{V_3}{V_4}}{M \times 1000} \times 100$$

式中：

X - β -葡聚糖的含量，g/100g；

W_1 - 从标准曲线上查得样品的无水葡萄糖质量，mg；

W_2 - 从标准曲线上查得空白的无水葡萄糖质量，mg；

M - 样品质量，g；

V_1 - 样品的体积数值，mL；

V_2 - 参与醇沉的体积数值，mL；

V_3 - 醇沉后获得的沉淀物经热水溶解定容的体积数值，mL；

V_4 - 参与反应的体积数值，mL。

计算结果保留小数点后两位

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立检测结果的绝对差值 $\leq 10\%$ ，以 $\geq 10\%$ 的情况不大于5%为前提
